

Qualität und Quantität der Wurzelexsudate von
Salix variegata
in Abhängigkeit von der Wurzeltemperatur
unter staunassen Bedingungen

Bachelorarbeit

von

Carina Schiffer

Matrikelnummer 4485831

geboren

am 13.10.1984

in

Mönchengladbach-Neuwerk

Studentin der Universität zu Köln

durchgeführt im

Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre, Abteilung 3 Phytosphäre

ICG3 des Forschungszentrum Jülich

April-Juli 2009

betreut durch

Professor Doktor M. Bonkowski, Universität zu Köln

Doktor A.J. Kuhn, ICG-3 Forschungszentrum Jülich

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Thema

„Qualität und Quantität der Wurzelexsudate von *Salix variegata* in Abhängigkeit von der Wurzeltemperatur staunassen Bedingungen“

selbständig und ohne Verwendung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus anderen veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften/Arbeiten/Quellen entnommen wurden sind als solche gekennzeichnet.

Die Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form und auch auszugsweise noch nicht im Rahmen einer anderen Prüfung vorgelegt worden.

Diese Arbeit wurde extern im ICG-3 des Forschungszentrums Jülich unter der Betreuung von Dr. A. J. Kuhn durchgeführt und wurde seitens der Universität zu Köln von Professor Dr. M. Bonkowski betreut.

Jülich den ,

Carina Schiffer

Danksagung

Ich danke:

Prof. Dr. M. Bonkowski für die Übernahme der Betreuung dieser externen Arbeit

Dr. A.J. Kuhn meinem Betreuer im Institut für Chemie und Dynamik der Geosphäre des
Forschungszentrums Jülich

Der Arbeitsgruppe Kuhn :

ganz besonders

Marlene Müller, Stephan Blossfeld, Agnes Höltkemeier, Christina Schreiber, Christina Terporten,
Xiao qi Ye

und vielen weiteren hilfsbereiten Kollegen aus ICG-3 und 4

Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>1. Zusammenfassung der Arbeit</u>	5
<u>2. Einleitung</u>	6
2.1 Projekt/Hintergründe.....	6
2.2 Exsudation und Rhizosphäre.....	7
2.3 Einflüsse auf die Wurzelexsudation.....	7
2.4 Chemie der Exsudate.....	8
2.5 Sauerstoffeinfluss.....	9
2.6 Mechanismen der Exsudation.....	9
2.7 Mengenanteil der Exsudate an den Photosyntheseprodukten.....	10
2.8 Mögliche Kohlenstoffflüsse im Versuchsaufbau.....	10
2.9 Respiration und mikrobieller Umsatz.....	11
2.10 Ökologie der Versuchspflanzen.....	11
2.11 Ziel der Arbeit, Fragestellungen und Hypothesen.....	13
<u>3. Material und Methoden</u>	14
3.1 Versuchsaufbau und Durchführung.....	14
3.2 Ablauf einer Probenahme.....	15
3.3 Auswertungs und Messmethoden.....	17
3.4 - Kapillarelektrophorese.....	17
3.5 - enzymatische Zuckermessung.....	19
3.6 Hoagland-Nährlösung.....	19
<u>4. Ergebnisse</u>	19
4.1 Entwicklung der Pflanzen.....	19
4.2 Organische Säuren.....	22
4.3 Zucker.....	30
<u>5. Diskussion</u>	36
5.4 Evaluation des Versuchsaufbaus und der Messmethoden.....	40
<u>6. Quellenverzeichnis</u>	44
<u>7. Anhang</u>	47
A.2. Sauerstoffmesswerte.....	47
A3.Pflanzenparameter.....	50
A4.Säuren pro Wurzeloberfläche.....	56
A5. Zucker pro Wurzeloberfläche.....	58
Materialien und Geräte	60

1. Zusammenfassung

Diese Arbeit befasst sich mit der Entwicklung von Methoden, die zur Quantifizierung und Identifikation von organischen Säuren und Zuckern aus Wurzelexsudaten in Bodenlösung auch in sehr niedrigen Konzentrationen geeignet sind.

Salix variegata, eine chinesische Weidenart, wurde über 36 Tage in staunassen Bedingungen bei 10°, 20° und 30° Wurzeltemperatur in Glasperlen und Nährlösung kultiviert. Bei vier Probennahmen, im Abstand von 5-6 Tagen, wurden zufällig ausgewählte Pflanzen aus jedem Ansatz entnommen, die Bodenlösung entzogen und die Pflanzen geerntet.

Drei der Pflanzen in 30° warmer Lösung starben im Versuchsverlauf ab, die übrigen zeigten zum Teil Verfärbungen der Blätter und Blattverluste.

Als Substrat wurden Glasperlen verwendet, da diese als inertes Material keinen Einfluss auf die Nährstoffversorgung und die Exsudate im Wurzelraum haben sollten (keine Adsorption).

Zur Bestimmung der Zuckerkonzentrationen wurden die Proben durch Gefriertrocknung eingeeengt und die Konzentrationen von Glukose, Fruktose und Sukrose enzymatisch über die Änderung der optischen Dichte mit einem ELISA Reader (Photometer) bestimmt.

In allen Ansätzen wurden Zucker gefunden. Konzentrationen lagen im Bereich bis 595 µmol/g Wurzeltrockengewicht. Konzentrationsmaxima traten im 30°C Ansatz in der 2. Ernte (nach 22 Tagen unter staunassen Bedingungen), im 20°C Ansatz in der 3. Ernte und im 10°C Ansatz bereits in der 1. und 2. Ernte auf. Die höchsten Konzentrationen wurden im 30°C Ansatz gefunden, im 20°C Ansatz liegen die Konzentrationen etwas niedriger, die niedrigsten Konzentrationen traten im 10°C Ansatz auf.

Die Konzentrationen organischer Säuren wurden mittels Kapilar-Elektrophorese (CE) bestimmt. In den Bodenlösungen konnten 6 organische Säuren (Oxalat, Formiat, Succinat, Acetat, Lactat, Citrat) nachgewiesen werden.

Es wurden Säurekonzentrationen von 0-185µmol/g Wurzeltrockengewicht gefunden. Dabei zeigten die drei Temperaturansätze Zeit versetzte Säuremaxima.

Für 30°C lag die größte Säurekonzentration in der ersten Probennahme, bei 20°C in der 2. und bei 10°C in der 4. Probennahme.

Wie bereits von LUO et al. (2007) und SCHREIBER et al. (unpubl.) gezeigt werden konnte kommt es bei *Salix variegata* auch unter staunassen Bedingungen zu Wachstumsprozessen insbesondere der Wurzeln. Dabei nahm die Wurzeloberfläche deutlich zu, dass Wurzelgewicht nur geringfügig. Dies wurde als Hinweis auf die Bildung von Aerenchymen interpretiert. Die Pflanzen im 20°C Ansatz entwickelten im Versuchszeitraum das höchste Spross- und Wurzeltrockengewicht (Gesamtmittel), die größte Wurzeloberfläche und die größte mittlere Blattanzahl. Bei den Pflanzen des 30°C Ansatzes traten die meisten Blattverluste und Verfärbungen auf und die meisten Anzeichen für Zersetzungsprozesse an den Wurzeln. Es zeigt sich ein quantitativer Einfluss der Temperatur, mit höchsten Säure und Zuckermengen im 30°C Ansatz.

Ein Temperatureinfluss auf die Wurzelexsudation deutet sich auch in der zeitlichen Verteilung der Säure- und Zuckermaxima an, die in den Ansätzen niedrigerer Temperatur später auftreten.

2. Einleitung

2.1 Projekt : Auftaktversuch zum Plant-Microbial Fuel Cell Kooperationsprojekt

Das Plant Microbial Fuel Cell Projekt ist ein Kooperationsprojekt von 10 Teilnehmern aus vier Ländern. Beteiligt sind Universitäten, Forschungszentren und Firmen aus den Niederlanden (4 Teilnehmer), Deutschland (3), Großbritannien und Frankreich. Es wird vier Jahre lang von der Europäischen Union gefördert.

Ziel ist die Weiterentwicklung und Optimierung der Plant-Microbial Fuel Cell zur klimaneutralen Gewinnung von Strom mit Hilfe lebender Pflanzen und Bakterien. Die Funktionsfähigkeit des Systems konnte bereits in den Niederlanden nachgewiesen werden. Die erzielten Ströme sind jedoch für eine ökonomische Nutzung noch bei weitem zu gering. Daher befassen sich die einzelnen Teilnehmer des Projektes mit der Optimierung der Materialien und Widerstände, der genauen Identifikation der beteiligten Mikroorganismen, sie testen verschiedene Pflanzenarten auf ihre Eignung für das System und untersuchen Einflüsse, die die Abgabe verschiedener Kohlenstoffverbindungen in den Boden beeinflussen. Das ICG-3 im Forschungszentrum Jülich wird die Eignung verschiedener Pflanzen zur Kultivierung unter staunassen Bedingungen untersuchen. Eine zentrale Fragestellung ist dabei inwieweit sich die Exsudation interessanter Kohlenstoffverbindungen durch die Pflanzenwurzel durch Faktoren wie zum Beispiel die Temperatur im Wurzelraum qualitativ und quantitativ beeinflussen lässt.

Die vorliegende Arbeit diene als erster Vorversuch zu diesen Untersuchungen im ICG3 und daher vor allem dem Test und der Entwicklung der Methoden für Kultivierung, Probennahme und Probenanalyse. Da dieser Versuch der erste einer ganz neuen Versuchsreihe in diesem Bereich ist, war im Vorfeld wenig über die zu erwartenden Stoffkonzentrationen, das Verhalten der Versuchspflanzen unter diesen Bedingungen und mögliche methodische Besonderheiten bekannt, die sich für die Messung der Exsudate und die anschließende Auswertung ergeben könnten. Die hierbei gewonnenen Erfahrungen kommen den weiteren Arbeiten im EU-Kooperationsprojekt zu Gute. Hierbei sollen in weiteren Versuchen verschiedene potentiell geeignete Pflanzenarten für den Einsatz in der Plant-MFC getestet werden. Der Versuch, der dieser Arbeit zu Grunde liegt wurde mit der Weidenart *Salix variegata* aus dem Yangtze-Gebiet in China durchgeführt. Zu dieser Pflanze liegen bereits Erkenntnisse zur Überflutungstoleranz und der Wurzelexsudation unter Überflutungsbedingungen vor. Daten ermittelten SCHREIBER et al. im Rahmen des Yangtze-Projektes in Kooperation mit der Universität Southwest China University, Beibei/Chongqing .

Das macht sie auch zu einer interessanten Testpflanze für den Einsatz unter staunassen und potentiell anaeroben Bedingungen in der Plant-Microbial Fuel Cell.

1.3 Exsudation und Rhizosphäre

Als Rhizosphäre bezeichnet man den dynamischen Mikrolebensraum in unmittelbarem Kontakt zur Pflanzenwurzel. Die Rhizosphäre wird durch Wurzelwachstum und die Abgabe von Substanzen aus den Wurzeln ständig erneuert und verändert (LIPTON et al. 1987). Pflanzenwurzeln sind in der Lage durch Aufnahme von Wasser und gelösten Nährstoffen und durch die Abgabe einer großen Bandbreite verschiedenster Substanzen Einfluss auf ihre unmittelbare Umgebung zu nehmen. (NEUMANN & RÖMHELD 2001; BADRI & VIVANCO 2009). Diese unmittelbar von der Wurzel beeinflusste Region wird als Rhizosphäre bezeichnet. Rhizosphäre und umgebender Boden unterscheiden sich deutlich in ihrer chemischen Zusammensetzung (DINKELAKER et al. 1993). Bedingt durch pH-Änderungen, durch die Abgabe von Protonen und organischen Säuren, Nährstoffaufnahme und diverse Interaktionen mit Bakterien, Pilzen und anderen Mikroorganismen. Die von Pflanzen in die Rhizosphäre freigesetzten Substanzen kann man nach der Art ihrer Freisetzung unterscheiden in durch Autolyse toter Zellen und Gewebe freigesetzte Lysate und von lebenden Zellen und Geweben abgegebene oder durch Diffusion in die Umgebung verlorene Exsudate (NEUMANN & RÖMHELD 2001). Es wird eine große zeitliche und räumliche Heterogenität in der Zusammensetzung der Wurzelexsudate beschrieben (JONES et al. 2003).

1.4. Einflüsse auf die Wurzelexsudation:

Die Abgabe von Exsudaten wird durch zahlreiche abiotische und biotische Faktoren beeinflusst. Die wichtigsten abiotischen Faktoren sind die Lichtintensität, da es sich bei den Wurzelexsudaten vor allem um neuassimilierte Photosyntheseprodukte handelt (Kaštovská & Šantrůčková 2007). Temperatur, Nährstoffversorgung, unterschiedliche Stressfaktoren (LIPTON et al. 1987), mechanische Einflüsse durch das Substrat sowie die Adsorptionseigenschaften des Wachstumsmediums. Zu den biotischen Einflüssen zählen z.B. Wiederaufnahmemechanismen der Wurzel, Interaktionen mit (symbiontischen oder pathogenen, parasitischen) Mikroorganismen, Mykorrhiza oder den Wurzeln anderer Pflanzen. (NEUMANN & RÖMHELD 2001; BADRI and VIVANCO 2009). Der Wassergehalt des Bodens beeinflusst die Exsudation über die veränderte Sauerstoffverfügbarkeit da die Diffusionsgeschwindigkeit von Sauerstoff durch Wasser geringer ist als in Luft (TIEDJE et al., 1984). Hypoxische Verhältnisse können Gärungsprozesse initiieren deren Endprodukte von den Wurzeln abgeschieden da sie cytotoxisch wirken. Die Wurzelexsudation zeigt einen Tagesrhythmus mit maximaler Exsudatabgabe über den Tag und minimaler Abgabe vor Morgengrauen (HOCKING & JEFFERY 2004; BADRI & VIVANCO 2009) und saisonale Rhythmen (Maxima in Frühjahr und Frühsommer) (BADRI and VIVANCO 2009; STROBEL 2000).

1.5 Chemie der Exsudate

In Bodenlösungen findet sich eine große Bandbreite unterschiedlichster Substanzen mikrobieller und pflanzlicher Herkunft. Besonders interessant sind im Hinblick auf die energetische Nutzung Zucker und Karbonsäuren.

Darüber hinaus findet man in der Bodenlösung Aminosäuren, Proteine, Fettsäuren, aromatische Verbindungen, Phosphat- und Nitratverbindungen sowie zahlreiche weitere Substanzen wie Wachstumsregulatoren und Vitamine.

Ein Teil der Substanzen, insbesondere ungeladene Zucker, der die Lipiddoppelschicht des Plasmalemma passieren kann verlässt passiv die Zelle. Die Diffusion zahlreicher Substanzen wird durch den starken elektrochemischen Gradienten zwischen Cytoplasma und Außenmedium gefördert. Im Cytoplasma liegen z.B. organische Säuren im millimolaren Bereich vor, im Boden jedoch nur im mikromolaren Bereich (BADRI & VIVANCO 2009).

Bei Bäumen stellen organische Säuren und Aminosäuren, die quantitativ wichtigsten Komponenten der Exsudate dar (ELDHUSET 2005). Verschiedene Pflanzen enthalten sehr unterschiedliche Mengen und Zusammensetzungen an Karbonsäuren in ihren Wurzeln. Der höchste Gehalt an organischen Säuren mit niedrigem Molekulargewicht findet sich in den oberen Bodenschichten, den Zonen höchster Wurzel- und Mikroben-Aktivität. Dort machen organische Säuren bis zu 10% des gelösten Kohlenstoffes aus (STROBEL 2000). Di- und Tricarboxylsäuren wie Citrat, Oxalat und Succinat liegen dort in Mengen von 0-50µmol vor. In Wald- und Wiesenböden werden höhere Konzentrationen als in bewirtschafteten Boden gefunden (STROBEL 2000).

In der hier vorliegenden Arbeit wurden die Bodenlösungsproben auf die Säureanionen Oxalat, Formiat, Succinat, Acetat, Citrat und Laktat untersucht. An Zuckern wurden die Monosaccharide Glukose und Fruktose und das Disaccharid Saccharose (Glukose + Fruktose) mit einer enzymatischen Zuckermessung photometrisch bestimmt. Für all diese Kohlenhydrate gibt es verschiedene mögliche Quellen, es ist jedoch bekannt, dass sie alle im Pflanzenstoffwechsel gebildet werden und sowohl von lebenden Wurzeln als auch von totem Pflanzenmaterial an die Umgebung abgegeben werden. Die meisten der Karbonsäuren mit niedrigem Molekulargewicht die in Bodenlösungen zu finden sind, sind als Metabolite des Zitronensäurezyklusses bekannt (z.B. Citrat, Succinat) (STROBEL 2000; RICHTER 1996). Die untersuchten Karbonsäuren lassen sich in drei Gruppen einordnen. Formiat und Acetat sind Monokarbonsäuren, Oxalat und Succinat gehören zu den Dikarbonsäuren, Laktat ist eine Hydroxykarbonsäure, Citrat eine Tricarbonsäure (RICHTER 1996). Es handelt sich um aliphatische Karbonsäuren, die bei pH-Werten zwischen 7,0 und 7,5 als Anionen vorliegen.

Die Monosaccharide stellen eine besonders reaktionsfähige Gruppe der Carbonylverbindungen dar. Durch glykosidische Bindungen können sie Mehrfachzucker oder Polymere wie Stärke und Cellulose bilden (RICHTER 1996), die für Pflanzen unverzichtbar sind. Das Disaccharid Saccharose ist aus den beiden Monosacchariden Glukose und Fruktose aufgebaut. Saccharose wiederum entsteht

bei der Mobilisierung von Speicherstoffen als typisches Produkt der Stärkespaltung. Da Glukose im Energiestoffwechsel der meisten Organismen eine zentrale Rolle spielt sind die wichtigsten Reservopolysaccharide Glukane wie Amylose und Amylopektin (ALBAN & BLASCHECK 2007).

1.6 Sauerstoffeinflüsse auf Rhizosphärenprozesse:

Unter staunassen Bedingungen oder bei besonders hohem Gehalt an organischen Substanzen kann es in Böden zu Sauerstoffmangelbedingungen kommen (TIEDJE et al. 1984). Sauerstofflöslichkeit und Diffusionsgeschwindigkeit sind von verschiedenen chemischen und physikalischen Bedingungen abhängig. Der Diffusionskoeffizient von Sauerstoff durch wassergefüllte Poren ist 10^4 -fach geringer als durch luftgefüllte Bodenporen, daher hängt die Sauerstoffverfügbarkeit unmittelbar von der Bodenfeuchte ab (TIEDJE et al. 1984). Somit können bei hoher Sauerstoffzehrung lokal anaerobe Zonen entstehen (TIEDJE et al. 1984). Der Grad der Sauerstoffzehrung ist von der Kohlenstoffverfügbarkeit abhängig. Pflanzenwurzeln benötigen ein hohes Sauerstoffangebot (RICHTER 1996) da Wasser die Diffusion von Sauerstoff einschränkt haben Wasserpflanzen spezielle Anpassungen entwickelt um anaerobe Bedingungen im Wurzelraum zu überstehen. Unterwasserpflanzen und Pflanzen staunasser Böden finden sich viele Arten von Aerenchymen, von schwammartigen Geweben mit großen Poren, über Luft gefüllte Röhren bis hin zu völlig hohle Sprossachsen (z.B. *Alternanthera philoxeroides* MART. siehe SCHREIBER et al. unpubl; LUO et al. 2007). Diese Aerenchyme erleichtern die Zufuhr von Sauerstoff in Teile der Pflanze wie Wurzeln oder Sprossachsen, die im Wasser oder anaeroben Sedimenten wachsen. Auch die untersuchte Weidenart *Salix variegata* kann bei Überflutung Aerenchyme ausbilden (siehe LUO et al. 2007; SCHREIBER et al. unpubl.). Werden Pflanzenzellen mit zu geringen Sauerstoffmengen versorgt muss die Energiegewinnung über Gärungsprozesse erfolgen. Dies ist jedoch aufgrund der geringeren ATP Ausbeute ungünstiger als aerobe Glykolyse /Dissimilation (RICHTER 1996). Die Abgabe organischer Säuren, insbesondere Acetat und Laktat, durch die Wurzel wird auch als Stressreaktion auf anaerobe Verhältnisse beschrieben (TIEDJE et al. 1984). Bei Sauerstoffkonzentrationen, die keine oxidative Phosphorylierung mehr erlauben spricht man von Anoxie, sind nur noch Restmengen von Sauerstoff in Geweben vorhanden, die auf anaeroben Stoffwechsel umstellen spricht man von Hypoxie. Anaerobiose bezeichnet den völlig Sauerstoff-freien Zustand der Zellen (RICHTER 1996). Als Normoxie wird der natürliche Sauerstoffpartialdruck von 20,9 kPa bezeichnet.

1.7 Mechanismen der Exsudation

Niedermolekulare Substanzen wie organische Säuren, Zucker, Aminosäuren und Phenole verlassen die Wurzeln vor allem passiv durch Diffusion, angetrieben durch das steile Konzentrationsgefälle zwischen Cytosol (mM Konzentrationen) und Bodenlösung (μ M Konzentrationen). Die Diffusion durch die Lipiddoppelschicht des

Plasmalemma ist von der Membranpermeabilität und der Ladung der Substanzen abhängig. Die Membranpermeabilität erhöht sich mit zunehmender Temperatur. Ein elektrochemischer Gradient über die Membran ermöglicht die Aufnahme von Kationen aus der Umgebungslösung und die Diffusion von Kohlenwasserstoffionen aus der Zelle in die Bodenlösung (NEUMANN & RÖMHELD 2001).

Die schnelle Abgabe großer Mengen spezifischer Substanzen als Reaktion auf Stressfaktoren, zur Mobilisierung von Nährstoffen oder Entgiftung von Schwermetallen erfolgt vor allem über regulierbare Ionenkanäle (betrifft z.B. Citrat, Malat, Oxalat bei Aluminium Toxizität) (NEUMANN & RÖMHELD 2001).

1.8. Mengenanteile der Exsudate an den Photosyntheseprodukten:

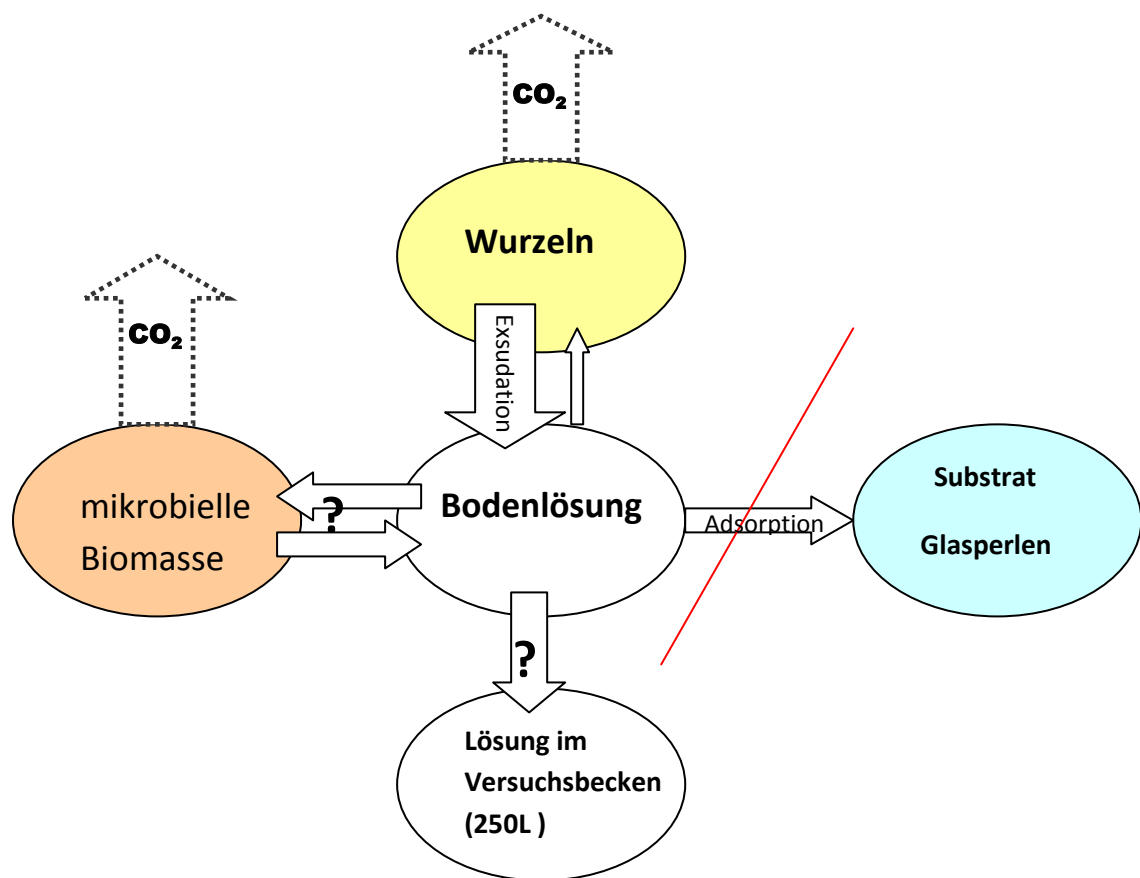


Abbildung 1: Mögliche Kohlenstoffflüsse innerhalb des Versuchsaufbaus (modifiziert nach JONES 1998)

Die Pflanzenwurzeln fungieren in diesem Versuchsansatz als Quelle von Kohlenstoff, der von den Pflanzen photosynthetisch fixiert oder aus internen Reserven freigesetzt wird. Als mögliche Senke für Kohlenstoffverbindungen aus der Bodenlösung kommen aerobe und anaerobe Mikroorganismen in Frage. Neben der Respiration und der Freisetzung von CO_2 erfolgen auch die Umwandlung verschiedener Substanzen und die Abgabe von Stoffwechselprodukten. Ein geringer Teil der Exsudate diffundiert aus dem Substrat in die Lösung und wird so stark verdünnt, dass er dort nicht mehr nachgewiesen werden kann. Möglicherweise wird ein Teil der Substanzen durch

Rückgewinnungsmechanismen der Wurzel wieder in die Pflanze aufgenommen. Eine Adsorption der Substanzen an Substratpartikel, wie sie in Böden beobachtet wird ist hier nicht zu erwarten, da Glasperlen ein inertes, ungeladenes Material darstellen. Der Anteil des exsudierten Kohlenstoffes am gesamten photosynthetisch fixierten Kohlenstoff variiert mit der Art, dem Alter und physiologischen Zustand der jeweiligen Pflanze (Jones 1998). Neben saisonalen Dynamiken zeigt sich auch zwischen ein- und mehrjährigen Pflanzen ein deutlicher Unterschied. Einjährige Pflanzen geben weniger von ihrem fixierten Kohlenstoff ab als mehrjährige Pflanzen (GRAYSTONE et al. 1996). Für Getreide werden Werte von 20-30%, für Weidegräser von 30-50% des assimilierten Kohlenstoffes angegeben (KUZYAKOV & DOMANSKI 2000). Für Mais werden Konzentrationen organischer Säuren in den Wurzeln mit Werten um 10-20mM angegeben (1-4% des Trockengewichtes), für Zucker werden Werte von 90mM angegeben (JONES 1998). Die Abgabe von Kohlenstoffverbindungen in den Boden erfolgt sehr schnell nach deren Assimilation. Bereits in den ersten Stunden (10% des fixierten C in 27h) konnten radioaktiv markierte Kohlenstoffe im Wurzelraum nachgewiesen werden (Kaštovská & Šantrůčková 2007).

1.9. Respiration und Mikrobieller Umsatz

In der Rhizosphäre treten verschiedenste Mikroorganismen gehäuft auf (PATERSON et al. 2006). Mikroorganismen nutzen Wurzelexsudate als leicht abbaubare Kohlenstoffquellen. Dies führt zu erhöhter mikrobieller Aktivität und erhöhter Mineralisation in der Rhizosphäre. KUZYAKOV et al. (2000) konnten mit C14-Pulsmarkierung unter ihren Versuchsbedingungen Werte für die Wurzelrespiration von 1,4-3,5% des neu assimilierten Kohlenstoffes messen, die mikrobielle Respiration der Wurzelexsudate in ihrem Versuch betrug zwischen 0,9 und 6,8% (KUZYAKOV et al. 2000). Mikrobielles Wachstum in Böden ist Kohlenstoff limitiert (GRAYSTONE et al. 1996) und wird als wesentliche Senke für photosynthetisch fixierten Kohlenstoff im Boden angesehen (Kaštovská & Šantrůčková 2007).

1.10. Ökologie der Versuchspflanzen

Salix variegata ist eine kleinwüchsige Weidenart (bis zu 2m, Luo et al. 2007), die auf sandigen Flussufern in China heimisch ist. Die Blätter von *S. variegata* sind länglich-oval und in der Größe sehr variabel (Flora of China). Man findet die Art an den Flussufern vom süd-östlichen Gansu, Guizhou, Henan, West Hubei, Süd Shaanxi, Sichuan, Ost Xizang, Nord Yunnan (Flora of China). Entlang des Yangtzes rekolonisieren sie sehr schnell neu angespülte Sedimente. Die Pflanzen tolerieren Überflutungen die länger als 3 Monate andauern (LUO et al. 2007). Durch ihre starken Wurzeln und die sehr geringen Nährstoffansprüche sind sie in der Lage die Treibsand-artigen Sedimente und sogar Weißsandstandorte zu besiedeln. Zur besseren Belüftung in anaeroben staunassen Sedimenten kann *S. variegata* Aerenchyme in Spross und Wurzeln ausbilden (CHEN et al. 2007). In ihrem natürlichen Habitat tolerieren sie schlechte Lichtbedingungen bei häufigem Nebel oder der Überflutung durch trübes, stark sedimenthaltiges Flusswasser.



Abbildung 2: Blüten von *Salix variegata*

Unter staunassen Bedingungen behielten Pflanzen der Art *S. variegata* auch nach 40 Tagen signifikant höhere Photosyntheseraten als Pflanzen der nicht überflutungstoleranten Art *Salix babylonica* (LUO et al. 2007). Während 32 Tagen Staunässe beobachteten LUO et al. (2007) die Bildung zahlreicher Adventivwurzeln. Staunasse Pflanzen erzielten größere Zuwächse der Sprosslänge, der Anzahl der Triebe, neu gebildeter Blätter, an Wurzelbiomasse und Gesamtbiomasse als die nicht staunassen Kontrollpflanzen. Bei völliger Überflutung fanden SCHREIBER et al. (unpubl.) in der Bodenlösung von *Salix variegata* niedrige, zum Teil abnehmende Säuremengen. Als dominierende Säureformen wiesen sie Formiat und Lactat nach. Acetat und Glyoxylat machten ebenfalls einen nennenswerten Teil der gesamten Säuremenge aus. In geringen Mengen wurden auch Oxalat, Malat, Succinat und Citrat nachgewiesen (SCHREIBER et al. unpubl.).

Im Gegensatz zu den Untersuchungen an *Salix variegata* im Rahmen des Chinaprojektes durch SCHREIBER et al., die bei kompletter Überflutung der Pflanzen durchgeführt wurden, ragt in diesem Fall der gesamte Spross der Pflanzen aus dem Wasser hinaus und kann in normalem Umfang Photosynthese betreiben. Lediglich der gesamte Wurzelbereich der Pflanzen befindet sich permanent in einem staunassen Substrat aus feinen, chemisch inerten Glasperlen. Betrachtet wird in diesem Versuch ob ein Temperatureffekt auf die Qualität und Quantität der organischen Wurzelexsudate, insbesondere der Zucker und aliphatischen Karbonsäuren, unter den gegebenen Versuchsbedingungen zu beobachten ist. Außerdem wird beobachtet, wie die Pflanzen auf die permanente Staunässe über einen Zeitraum von 36 Tagen reagieren.

1.11. Ziel der Arbeit- Hypothesen und Fragestellungen des Vorversuches

Diese Arbeit dient in erster Linie dem Test und der Entwicklung des Versuchsaufbaus und der Untersuchungsmethoden zum Nachweis und zur Quantifizierung Organischer Säuren mit niedrigem Molekulargewicht (Acetat, Lactat, Citrat, Oxalat, Formiat, Succinat) sowie dem Nachweis und der Quantifizierung von Zuckern (Saccharose/Sukrose, Glukose, Fruktose) aus Bodenlösungsproben von Pflanzen unter staunassen Bedingungen.

Der Versuchsaufbau wird anhand der hier gewonnenen Erfahrungen modifiziert. Die Methoden wurden auf ihre Eignung getestet vor allem im Hinblick auf die in diesem Versuchsansatz gefundenen Konzentrationen.

1. Der hier beschriebene Versuchsansatz und die verwendeten Aufbereitungs- und Analysemethoden sind geeignet gesicherte Aussagen über die Qualität von Wurzelexsudaten von *Salix variegata* zu treffen.

2. Eine Quantifizierung der Exsudation ist auf diese Weise möglich.

3. Es lassen sich Aussagen über einen Temperatureinfluss auf die Exsudation von Zuckern und Säuren treffen.

4. Ein unsteriler Versuchsansatz unter Bedingungen, die denen im Ursprungshabitat der Pflanze nahe kommen ist für diese Fragestellung geeignet und aussagekräftig.

Hypothesen die im weiteren Verlauf der Versuche genauer beleuchtet werden sollen

1. Es ist ein Temperatureffekt auf die Wurzelexsudation festzustellen (quantitativ oder qualitativ).

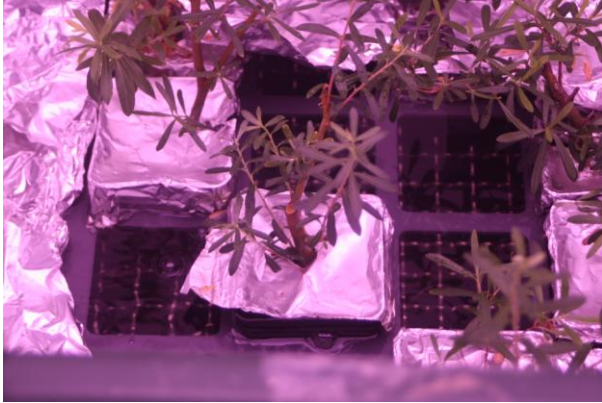
2. Es gibt signifikante Unterschiede in Konzentration und oder Zusammensetzung der Säuren und Zucker zwischen den Ansätzen.

3. Die Pflanzenparameter Wurzelgewicht, Wurzeloberfläche, Sprossmasse und Blattzahl haben einen erkennbaren Einfluss auf die Exsudation.

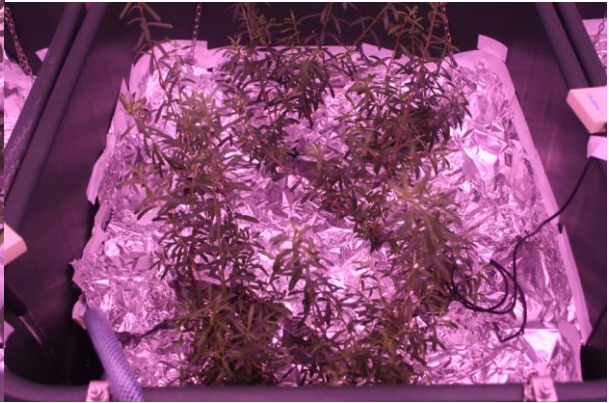
2.1 Versuchsaufbau und Durchführung

Versuchsanordnung

A



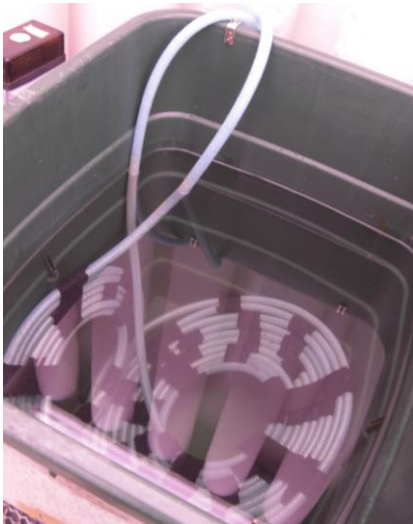
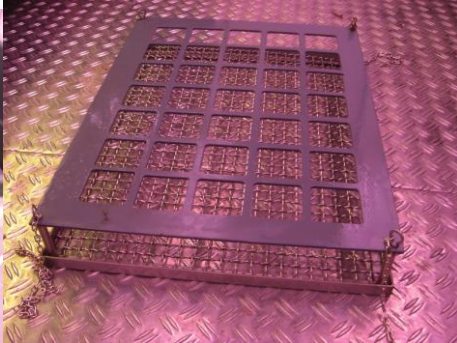
B



C



D



E

F

Abbildung 3 A-F: A Pflanze im Ansatz, B Ansatz mit Pflanzen und mit Alufolie abgedeckter Wasseroberfläche, C Versuchsansätze ohne Pflanzen, D Pflanzenhalterung, E 10°C Ansatz mit Kühlschnecke, F gesamter Versuchsaufbau.

Die Versuchspflanzen für die drei Temperaturansätze wurden zuvor aus Stecklingen gezogen und in mit Gaze ausgekleidete Töpfe mit inertem Substrat aus Glasperlen (Durchmesser 425-850µm) eingesetzt. Die Gaze verhinderte ein Austreten des Substrates. Der Versuchsaufbau bestand aus drei Kunststofftonnen mit 250L 15% Hoagland-Nährlösung. In diese wurde eine Aufhängevorrichtung eingehängt, auf die in jedem Ansatz 20 Pflanzen von *Salix variegata* eingesetzt wurden. Dabei wurden die Pflanzen möglichst so verteilt, dass Größenunterschiede insgesamt ausgeglichen wurden. Der Versuch wurde in einer Klimakammer bei 21 Grad Lufttemperatur und 60% Luftfeuchte durchgeführt. Beleuchtet wird mit Leuchtstoffröhren vom Typ Osram FLUORA 58W. Auf Höhe der Pflanzen wurde zwischen 80 und 100µEinstein/m²*s photosynthetisch aktive Strahlung gemessen. Der 10°C Ansatz wurde mit Hilfe einer aus einem Kunststoffschlauch angefertigten Kühlschnecke gekühlt, durch die mit einem Kryostaten auf 7°C gekühltes Wasser-Glycerol-Gemisch geleitet wurde. Der 30°C Ansatz wurde mit 2 Aquarienheizstäben beheizt. Die Tonnen dieser beiden Ansätze waren mit Luftpolsterfolie isoliert. Der 20°C Ansatz wurde bei Raumtemperatur belassen. Temperaturschwankungen von ±1°C wurden toleriert. Eine Umwälzpumpe mit Filter und UV Lampe wurde alle 3 Tage zwischen den drei Ansätzen ausgetauscht. Die UV Lampe dient der Vermeidung von Algenwachstum. Dem Einsetzen der Pflanzen in die Versuchsansätze folgte eine siebentägige Akklimatisationsphase. Es wurden vier Probennahmen durchgeführt. Die Erste erfolgte am 15. Tag nach der Akklimatisationsphase (nach 22 Tagen Staunässe). Die zweite Probennahme erfolgte am 21. Versuchstag (nach 28 Tagen Staunässe), die Dritte am 24. Tag (nach 31 Tagen Staunässe) und die Vierte am 30. Versuchstag (nach 37 Tagen Staunässe). Bei der vierten Probennahme wurden die Blindwerte genommen. Dazu wurde je ein Topf ohne Pflanze nur mit Substrat gefüllt in jedem Versuchsansatz mitlaufen lassen und dann genauso wie die Substrate der Versuchspflanzen beprobt. Außerdem wurden Wasserproben aus den Versuchsansätzen genommen. Parallel wurden Sauerstoffmessungen im Substrat einzelner Pflanzen über 24h Stunden hinweg durchgeführt. Im Anschluss an jede Probennahme wurden die Wurzeln mit einem Flachbettscanner gescannt und Oberfläche, Volumen und Größenverteilung des gesamten Wurzelsystems jeder Pflanze ermittelt. Das gesamte Pflanzenmaterial wurde getrocknet (≥ 24h bei 75°C) und die Trockengewichte wurden bestimmt. Die Bodenlösungsproben wurden zur enzymatischen Zuckermessung durch Gefriertrocknung aufkonzentriert. Es wurden Glukose, Fruktose und Saccharose gemessen. Sechs organische Säuren wurden mittels Kapillar-Elektrophorese bestimmt und quantifiziert.

2.2. Ablauf einer Probenahme/Ernte

Je fünf zufällig ausgewählte Pflanzen wurden den Ansätzen entnommen. Dabei wurde abtropfendes Wasser in einer Schale aufgefangen. Die Pflanzen wurden aus den Töpfen entnommen und mit Wurzeln und Substrat in den Filter einer Saugflasche gegeben. Das Nassgewicht von Substrat inklusive Pflanze wurde notiert. Dann wurde mit Hilfe einer Vakuumpumpe in der Flasche unter dem Nylonfilter ein Unterdruck erzeugt wodurch dem Substrat die Flüssigkeit entzogen

wurde. Diese wurde in der Flasche aufgefangen gewogen und bei minus 25°C tief gefroren. Das Trockengewicht des Substrates mit Pflanze wurde ermittelt. Zum Schluss wurde das Substrat im Trockenschrank bei 75° C 24h-48h getrocknet um den Gehalt an Restwasser zu ermitteln. Die ausgespülten Pflanzen wurden fraktioniert und das Frischgewicht von Spross und Wurzel wurde ermittelt. Es wurde außerdem die Anzahl der Blätter aufgenommen und die frischen Wurzeln wurden gescannt und vermessen. Anschließend wurde das Pflanzenmaterial 48h bei 75° C getrocknet und das Trockengewicht ermittelt. Der beschriebene Ablauf der Probenahme wurde für alle Ernten und ebenfalls für die Bearbeitung der Nullproben beibehalten.



Abbildung 4: Saugflaschen nach Einfüllen des Substrates und der Pflanzen

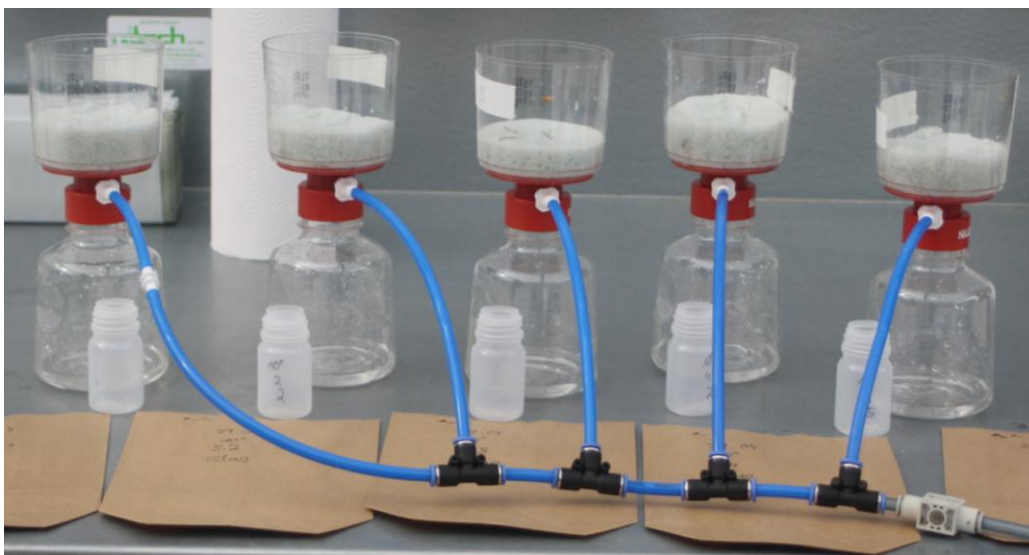


Abbildung 5: Aufbau der Absaugvorrichtung ohne Pflanzen

Die Methode der Probennahme wurde in ähnlicher Form von SCHREIBER et al. (unpubl. in Vorbereitung) im Rahmen des Yangtze-Projektes verwendet und für diesen Versuch entsprechen angepasst.

Für Details zu Materialien und verwendeten Geräten siehe Anhang ab Seite 60

2.3 Auswertungs/Messmethoden

2.4. Kapillar Elektrophorese

Verwendet wurde ein Agilent Capillary Electrophoresis system G 1600A, der Firma Agilent, Böblingen mit einem Diode Array Detektor (DAD) und fused silica Kapillaren (75µm innen Durchmesser).

Die Auftrennung erfolgte bei 30kV und 25°C zur Quantifizierung wurden interne Standards der Säuren (5, 10, 20µmol) verwendet. Jede Probe wurde zweifach gemessen nachdem die Kapillare 5 Minuten mit 0,1 NaOH, 1Minute mit Wasser und 5 Minuten mit Elektrolyt gespült wurde. ein kompletter Durchlauf für eine Probe dauerte 23 Minuten. 20 Proben konnten in einem Durchlauf gemessen werden.

Die Auftrennung der einzelnen Substanzen erfolgt nach ihrer Ladung. Anhand der internen Standards ist es möglich Substanzen zu bestimmen indem ihre Abfolge und der Abstand zu anderen Peaks verglichen werden. Lässt dies keine eindeutige Bestimmung der Substanz zu kann durch Zugabe definierter Mengen bekannter Substanzen nach dem Ausschlussprinzip vorgegangen werden. Es ist somit nur möglich Stoffe zu identifizieren, die in den verwendeten Standards enthalten sind.

2.5. Enzymatische Zuckermessung mit „ELISA-Reader“ Mikroplatten-Absorptionsspektrometer

Gemessen wurden die Proben aus dem ersten Absaugvorgang aller Probennahmen, die zuvor durch Gefriertrocknung eingeengt wurden. Die Konzentrationsfaktoren waren recht unterschiedlich und wurden daher mit dem jeweiligen Probenmesswert einzeln verrechnet bevor die Proben einer Ernte zusammengefasst wurden. Verfahren: enzymatische Messung der Zuckerkonzentrationen über die Änderung der Optischen Dichte (OD). Gemessen wurden die Monosaccharide Glukose und Fruktose und das Disaccharid Saccharose (Glukose+Fruktose). Der Probelösung wurde dazu zuerst Hexokinase zugegeben, diese phosphoryliert mit Hilfe von ATP(Adenosintriphosphat) die in der Probelösung vorhandene Glukose zu Glucose-6-phosphat. In Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat Dehydrogenase wird Glucose-6-phosphat von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotidphosphat (NADP) zu Gluconat-6-phosphat oxidiert. (UGRINOVITS,1980). Es entsteht reduziertes NADP, das anhand seiner Absorption bei 340nm als Änderung der Optischen Dichte photometrisch bestimmt. Aus der Differenz der Optischen Dichte vor Enzymzugabe und nach Erreichen eines konstanten Wertes nach Enzymzugabe kann mit der unten angegebenen Formel die Zuckerkonzentration in mmol/L errechnet werden. Nach dem gleichen Prinzip verläuft die Bestimmung der Fruktosekonzentration mit Hilfe des Enzyms Phospho-Gluko-Isomerase und die Bestimmung der Sukrose-Konzentration mit Invertase.

Berechnung der Zuckerkonzentration:

Formel zur Berechnung der Zuckerkonzentration:

$(\text{Differenz der OD} - 3,455) / 320,091 = \text{Zuckerkonzentration in mmol/Liter (mM)}$

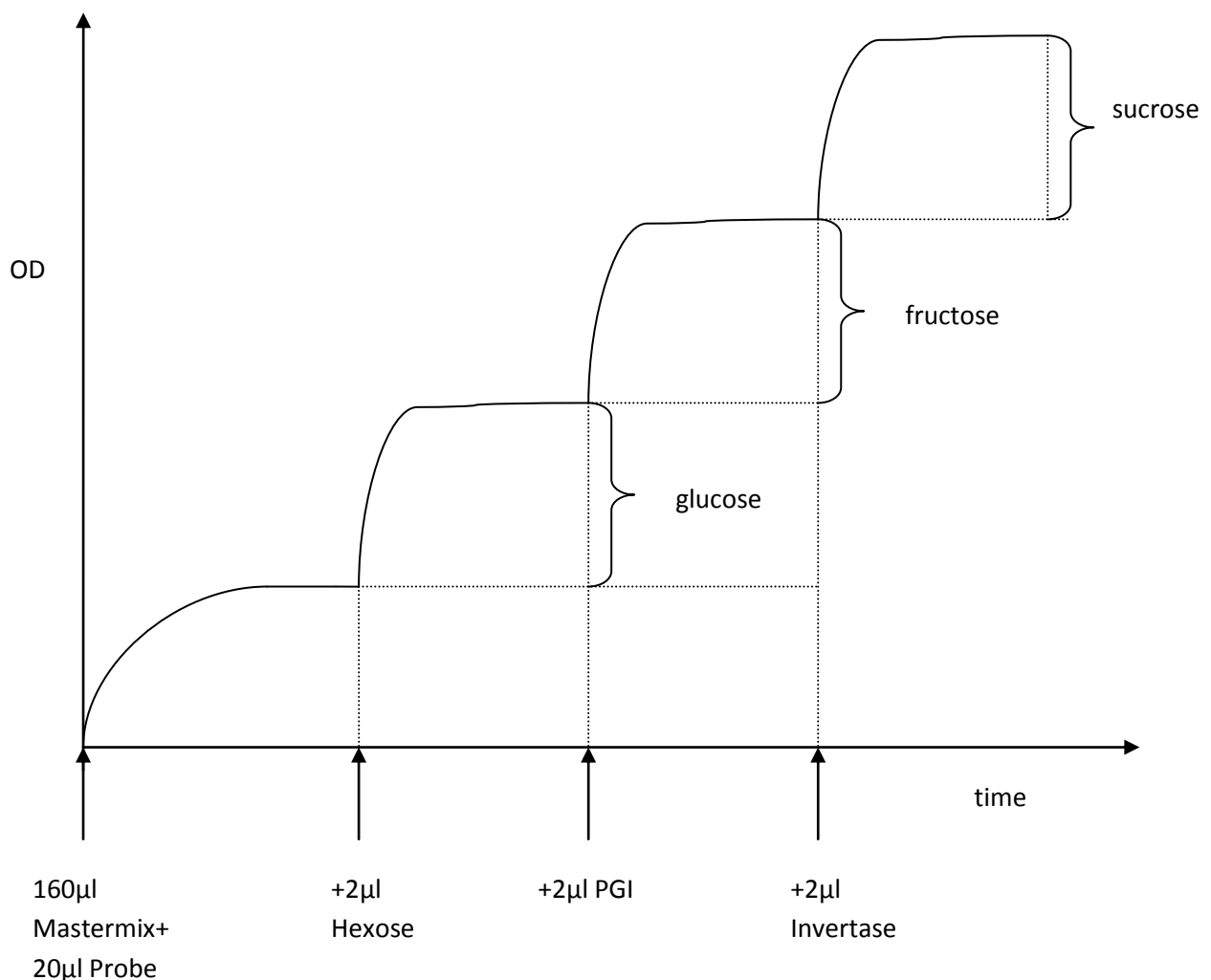


Abbildung 6: Messvorgang Ablauf der enzymatischen Zuckermessung

Es wurden immer 2 Ansätze für jede Probe und zwei Proben aus jeder Bodenlösung gemessen (es liegen also 4 Messwerte für jede Lösungsprobe vor). Zusätzlich wurden als Nullwert H₂O bidest. und reiner Mastermix gemessen. Von jedem zumessenden Zucker wurde zur Kontrolle der Enzymfunktionalität ein Standard gemessen. Wenn die Messwerte der Probelösungen konstante Werte annehmen kann das erste Enzym zugegeben werden. Der Zeitpunkt der Enzymzugabe wird notiert. Die Differenz des Messwertes vor Enzymzugabe und bei Erreichen eines neuen konstanten Messwertes dient als Änderung der Optischen Dichte der Konzentrationsberechnung für den jeweiligen Zucker.

Messgenauigkeit:

Da die Zuckerkonzentrationen in den Bodenlösungsproben sehr niedrig waren mussten die Proben zuvor durch Gefriertrocknung aufkonzentriert werden. Trotz Eintrocknung der Proben lagen die Konzentrationen nahe an der Auflösungsgrenze der Messmethode (ca. 20µmol/L).

2.5. Geräte/Materialien:

Hoagland-Lösung (Nährlösung):

Eine 100% Hoagland-Nährlösung enthält: 5ml/l KNO_3 , 5ml/l $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 2ml/l MgSO_4 , 1ml/l KH_2PO_4 , 1ml/l Spurenelemente, 1ml/l FeEDTA Fe-Äthylendinitrilotetraessigsäure)

Spurenelementlösung (Hoagland und Long Ashton): 0,01mmol/L MnCl_2 mal 4 H_2O , 0,001 mmol/L CuSO_4 mal 5 H_2O , 0,001mmol/L ZnSO_4 mal 7 H_2O , 0,05mmol/L H_3BO_3 , 0,0005mmol/L Na_2MoO_4 mal 2 H_2O

Verwendet wurden pro Versuchsansatz 250l 15% Hoaglandlösung.

3. Ergebnisse:

3.1. Entwicklung der Versuchspflanzen

Beobachtungen

Pflanzen im 10°C Ansatz:

Am 14. Versuchstag (nach 21 Tagen Staunässe) zeigten einige Pflanzen im 10°C Ansatz abgestorbene Blattspitzen an älteren Blättern (siehe Photo 1)

Wurzel:

Die Wurzeln im 10°C Ansatz waren in der Regel sehr hell gefärbt, weiß-beige mit dunkleren Spitzen. Sie zeigten keine erkennbare Zersetzung, wenig dunkle Rückstände im Filter und keinen Fäulnisgeruch.

Pflanzen im 20°C Ansatz :

Ab dem 14. Versuchstag (nach insgesamt 21 Tagen im Ansatz) traten auch im 20°C Ansatz abgestorbene Blattspitzen und Blattränder an älteren Blättern auf. Bei vier Pflanzen zeigte sich zusätzlich eine Gelbfärbung einzelner Blätter.

Wurzeln:

Zum Ende des Versuches wiesen die Wurzeln dunkle Stellen auf und leichter fauliger Geruch deutete auf Zersetzungsprozesse hin.

Pflanzen im 30°C Ansatz:

In diesem Ansatz starben drei der 20 Versuchspflanzen ab. Bei 6 der verbleibenden 17 Pflanzen trat eine Gelbfärbung der Blätter auf gefolgt von Blattverlusten.

Wurzeln:

Bereits bei der ersten Probennahme waren die Wurzeln sehr dunkel, sie wiesen viele weiche Stellen auf. Fäulnisgeruch deutete auf stärkere Zersetzungsprozesse an den Wurzeln hin. Zudem zeigten einige Wurzeln einen violetten Überzug, wie er auf abgestorbenen Pflanzenteilen am Grund von eutrophen Gewässern zu beobachten ist. Nach dem Absaugen der Bodenlösung verblieben dunkle Ablagerungen im Filter.

Allgemeine Tendenz:

Die auftretenden Blattverlust nahmen generell zum Ende des Versuchszeitraumes hin zu je länger die staunassen Bedingungen andauerten.

Pflanzenparameter

Erhobene Daten zu den Pflanzenparametern, Frisch- und Trockengewichte der Wurzeln und Sprosse, Blattanzahl und Wurzeloberfläche sind im Anhang ab Seite 48 dargestellt.



Abb. 7: *S. variegata* Setzlinge vor Versuchsbeginn.



Abb. 8: Abgestorbene Blattspitzen im 10°C Ansatz.



Abb.9: Wurzeln im 10°C Ansatz

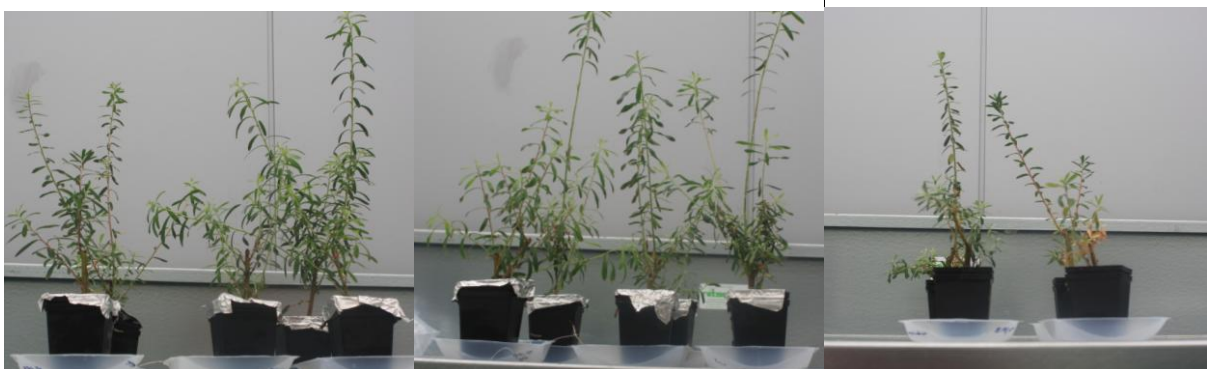


Abbildung 10: links Pflanzen aus dem 10°C Ansatz, Mitte Pflanzen aus dem 20°C Ansatz und rechts aus dem 30°C Ansatz (Tag 30/3.Ernte)



Abbildung 11: Komplette Pflanze aus dem 10°C Ansatz. (29.04.2009/ nach 22 Tagen Staunässe)



Abbildung 12: Komplette Pflanze aus dem 20°C Ansatz (nach 22 Tagen Staunässe)



Abbildung 13: Komplette Pflanze aus dem 30°C Ansatz (nach 22 Tagen Staunässe)

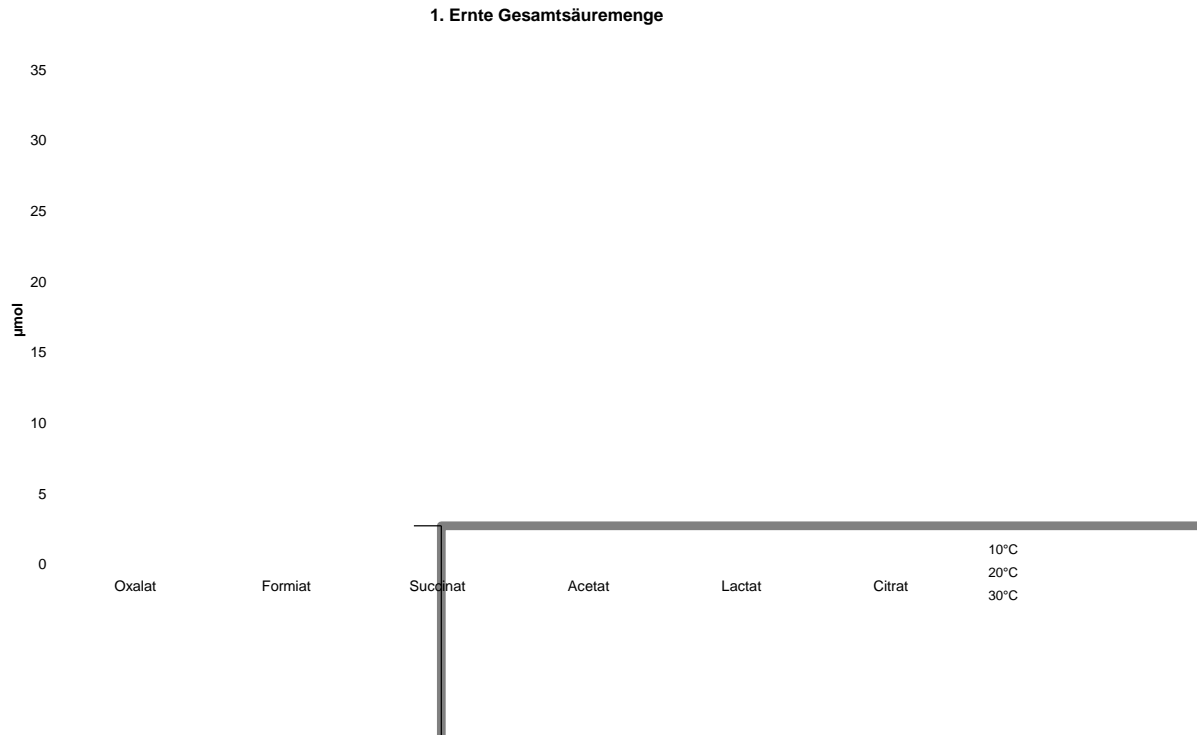


Abbildung 14 a

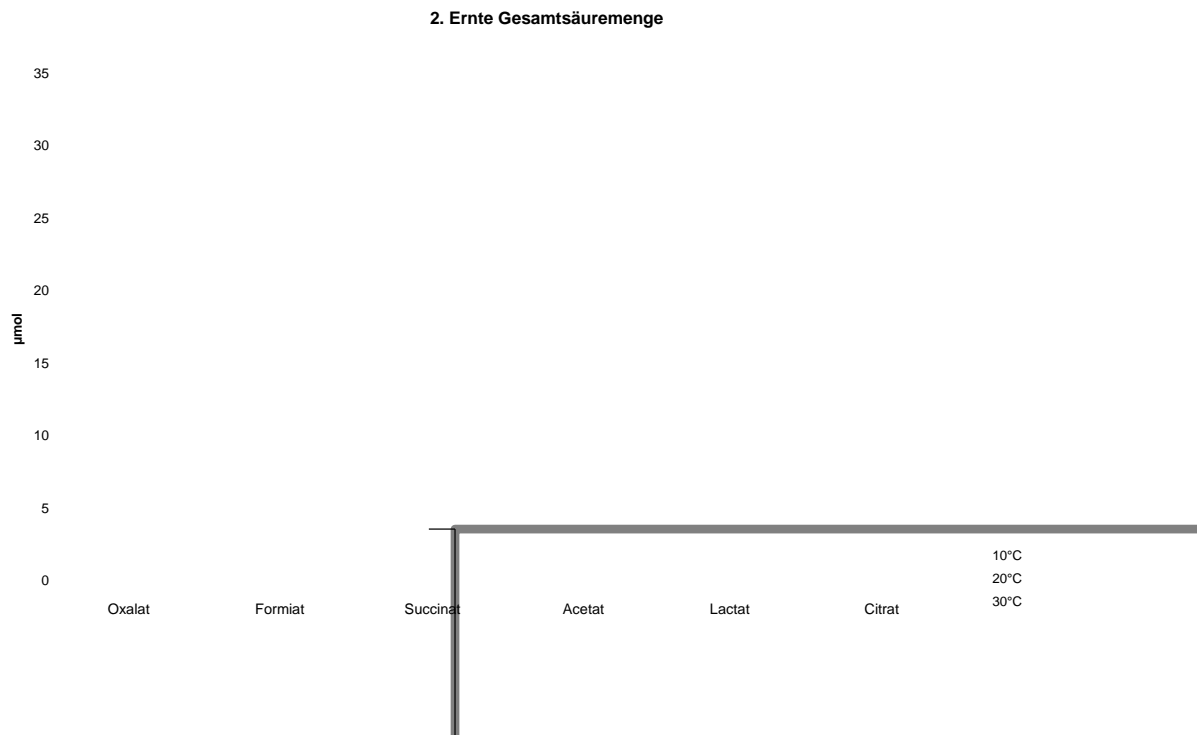


Abbildung 14 b

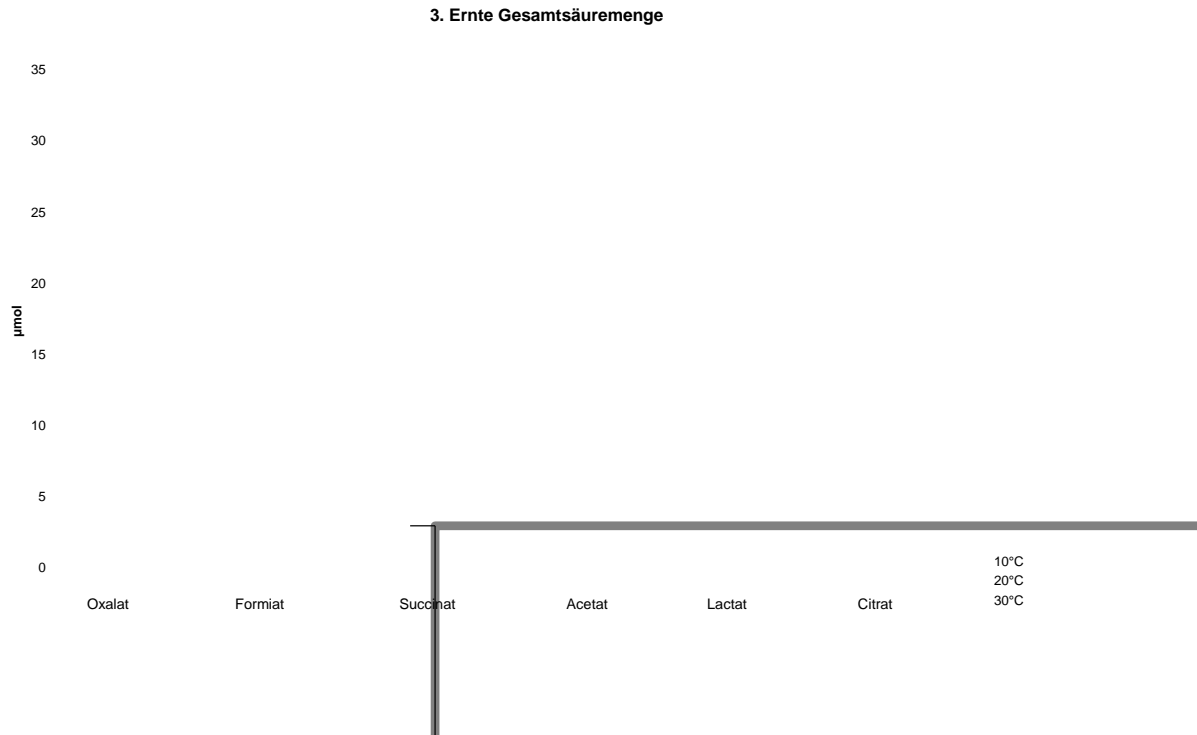


Abbildung 14 c

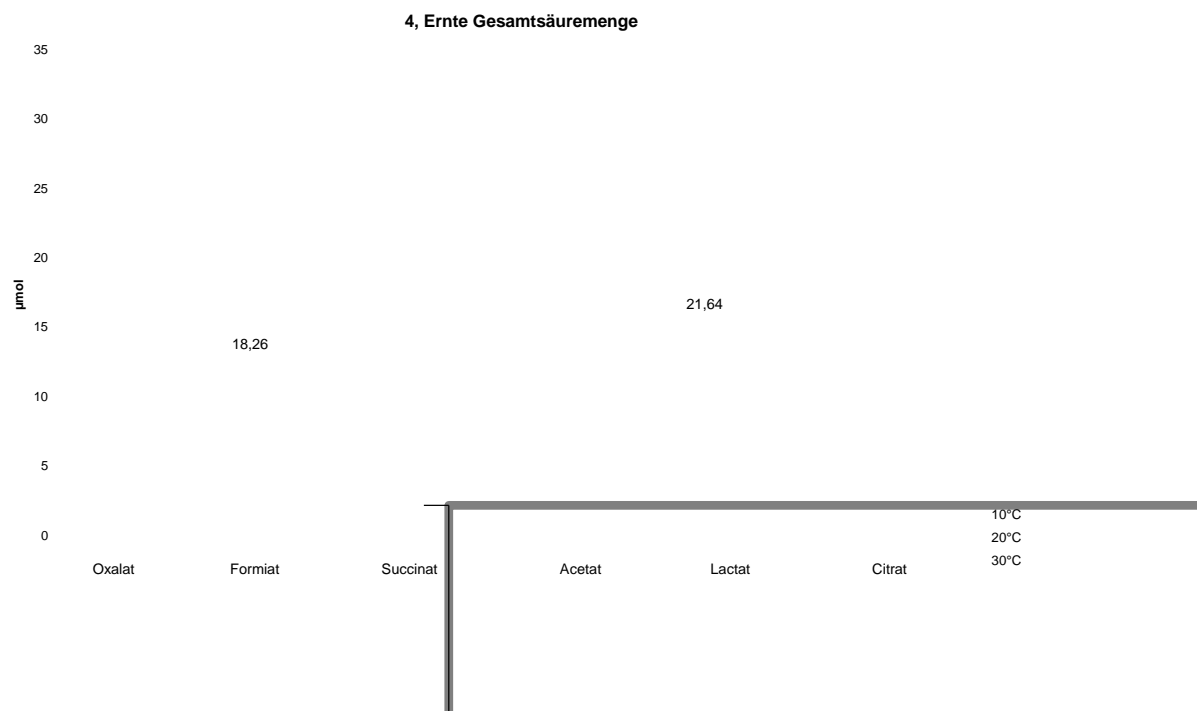


Abbildung 14 d

Abbildung 14 a-d : Gesamtsäuremengen der sechs gemessenen organischen Säuren (Oxalat, Formiat, Succinat, Acetat, Lactat, Citrat) in den Bodenlösungen der vier verschiedenen Probenahmen aus den drei Temperaturansätzen 10°C, 20°C und 30°C .

Säuremenge:

Im Verlauf des Versuches wurden alle sechs der gemessenen organischen Säuren in den Ansätzen aufgefunden jedoch in sehr unterschiedlicher Menge.

Mit Ausnahme von Formiat wurden alle betrachteten Säuren in jedem Ansatz mindestens einmal aufgefunden. Dabei zeigen die 4 Probenahmen eine starke Dynamik in der Säuremenge und Zusammensetzung in den Bodenlösungen innerhalb eines Temperaturansatzes sowie zwischen den drei Temperaturansätzen.

In allen vier Probenahmen fanden sich Acetat und Lactat, Succinat und Citrat traten in sehr geringen Mengen auf ($<3\mu\text{mol}$).

Den höchsten Säuregehalt der vier Probenahmen weist die erste Ernte auf. Hier liegen die höchsten Werte bei Acetat ($29,56 \pm 2,09$) im 30°C Ansatz, 10° und 20°C weisen ebenfalls größere Mengen Acetat auf (siehe Abb. 14 a).

In der 2. Probenahme hat die Acetatmenge deutlich abgenommen.

Die vorherrschende Säure in der 2. Probenahme ist Laktat mit einem maximalen Wert von $8,55\mu\text{mol}$ ($\pm 12,11$) bei 20°C. In der dritten Probenahme liegen alle Werte unter $5\mu\text{mol}$.

In der vierten Probenahme findet sich Formiat, als einer der höchsten Werte im 10°C Ansatz. Formiat wurde nur in diesem Ansatz und nur bei der 4. Probenahme gefunden.

Oxalat hingegen wurde nur in der 1. Probenahme im 30°C Ansatz in nennenswerter Menge nachgewiesen.

Bedingt durch die große Heterogenität der Einzelmesswerte ist die Standardabweichung zum Teil sehr hoch.

Der Vergleich der vier Probenahmen zeigt, für den 30°C Ansatz ein Maximum der Säuremenge in der 1. Ernte mit Höchstwerten für Acetat ($29,56 \pm 2,09$) und Oxalat ($5,8 \pm 11,85$). Die höchsten Werte im 20°C Ansatz liegen bei Acetat in der 1. und Lactat in der 2. Probenahme (siehe X a und b). In der 2. Probenahme enthält der 20° C Ansatz insgesamt die größte Säuremenge. Das Maximum der Säuremenge im 10°C Ansatz tritt in der 4. Ernte auf mit höchsten Werten bei Formiat ($12,91 \pm 18,26$) und Lactat ($15,3 \pm 21,64$).

Alle Säuremengen liegen unterhalb von $35\mu\text{mol}$.

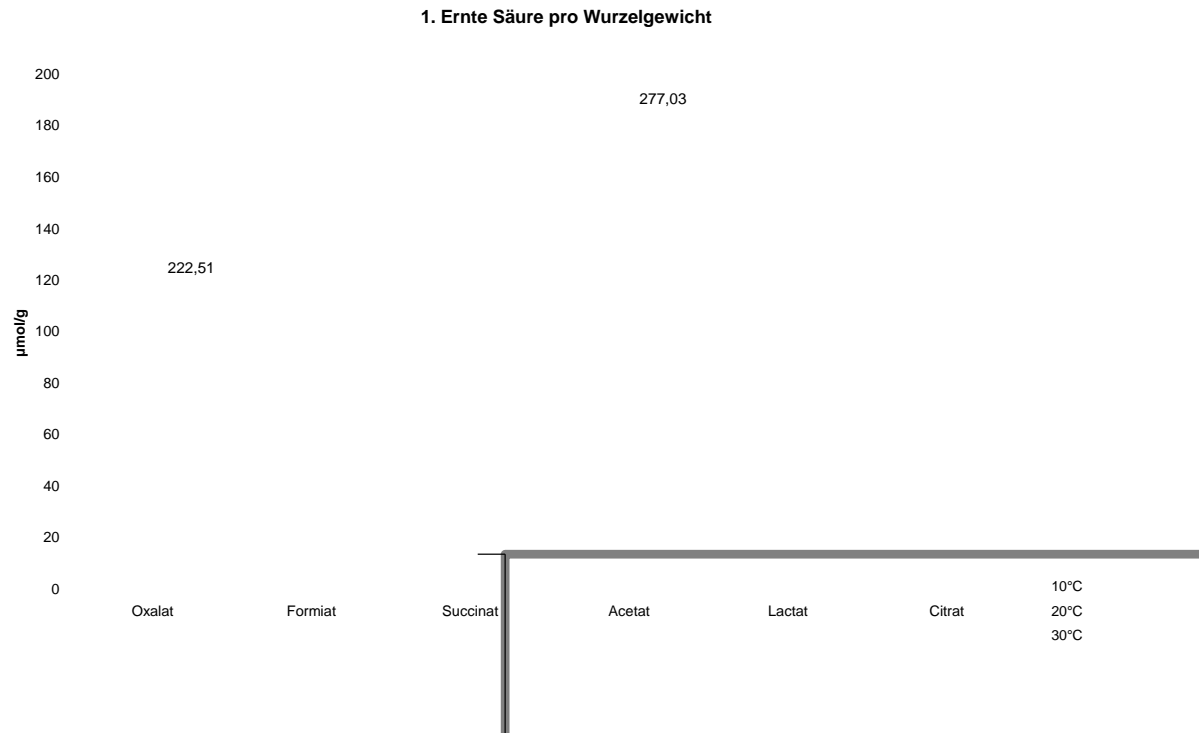


Abbildung 15a

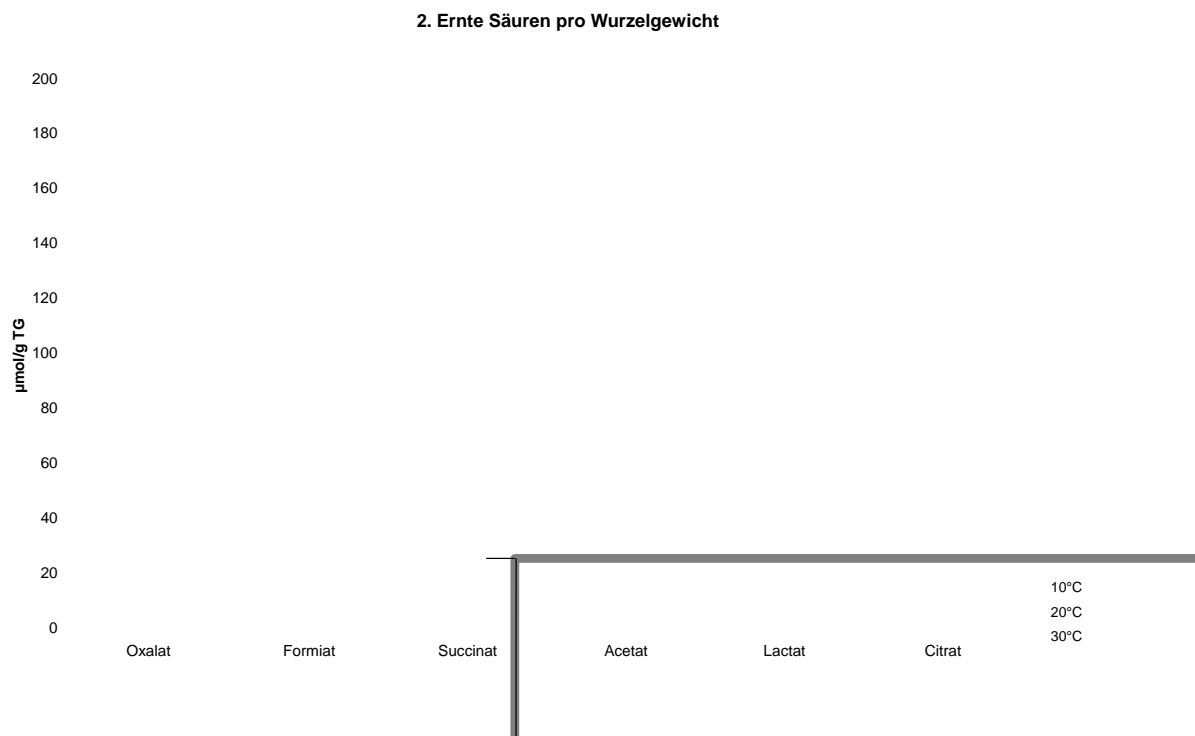


Abbildung 15 b

3. Ernte Säuren pro Wurzelgewicht

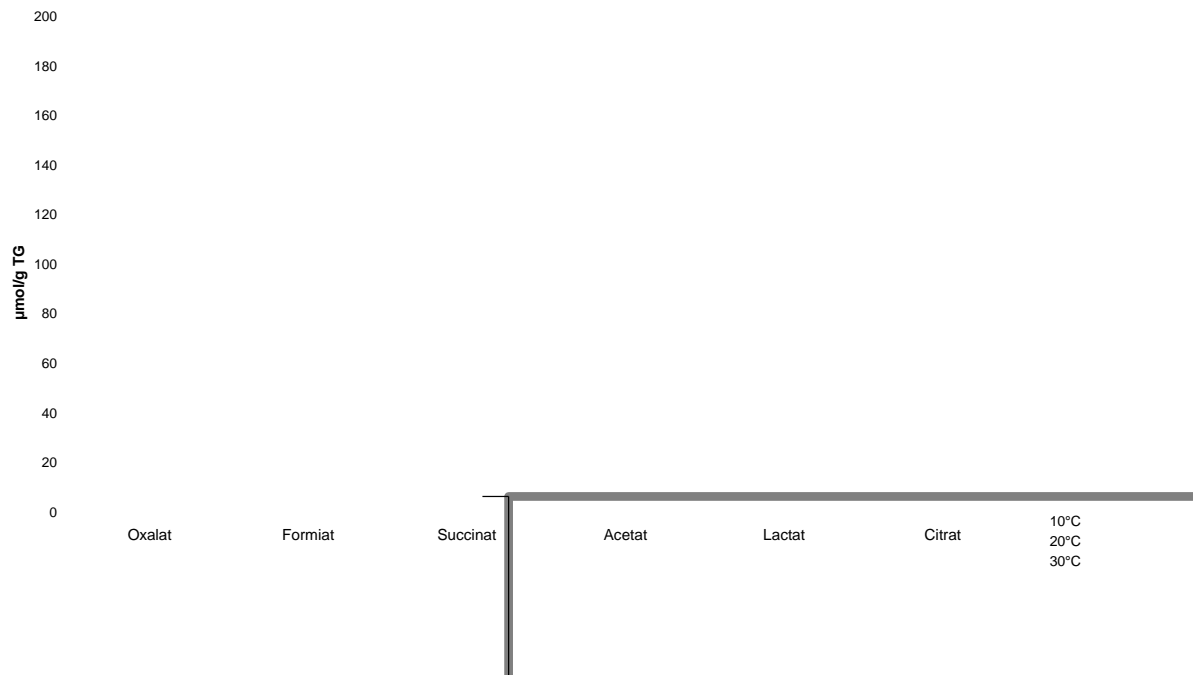


Abbildung 15 c

4. Ernte Säuren pro Wurzelgewicht

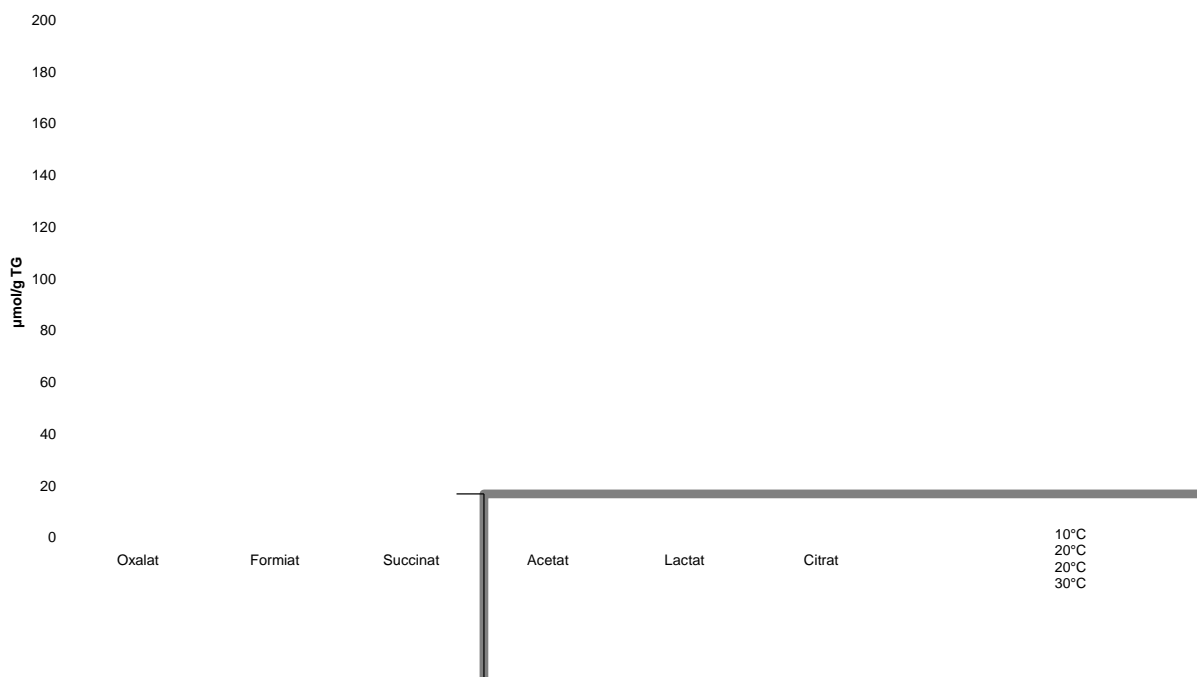


Abbildung 15 d

Abbildung 15 a-d : Säuren bezogen auf das Wurzeltrockengewicht der Pflanzen aus den jeweiligen Ansätzen zu den vier Probennahmeterminen.

Säure pro Wurzeltrockengewicht:

Die gemessenen Säurekonzentrationen liegen im Bereich 0-200µmol/g Wurzeltrockengewicht. In der ersten Ernte finden sich die höchsten Acetat Konzentrationen die im Versuchszeitraum gemessen wurden. Der höchste Wert wurde im 30°C Ansatz gefunden ($185,17 \pm 277,03 \mu\text{mol/g}$), der zweithöchste Wert bei 20°C ($49,05 \pm 14,66 \mu\text{mol/g}$) und der Wert für 10°C mit $41,45 \pm 23,23 \mu\text{mol/g}$ Wurzeltrockengewicht. Die Acetatkonzentrationen der weiteren drei Probennahmen sind deutlich geringer. Die höchsten Säurekonzentrationen im 30°C Ansatz findet man für Acetat und Oxalat ($116,12 \pm 222,51 \text{mmol/g}$) in der ersten Probennahme. In der 3. Probennahme werden in der 30°C Probe nennenswerte Mengen an Lactat ($37,21 \pm 64,45 \mu\text{mol/g}$) und Citrat ($15,94 \pm 27,6 \mu\text{mol/g}$) gefunden. Für Citrat ist dies der einzige Messwert größer als 5µmol. Der 20°C Ansatz weist in der ersten Ernte das Maximum der Acetat Konzentration auf. In der 2. Probennahme findet man eine Lactat Konzentration von $35,72 \pm 61,53 \mu\text{mol/g}$ Wurzeltrockengewicht. Der 10°C Ansatz weist, mit Ausnahme der hohen Acetat Konzentration in der ersten Ernte, in der 4. Probennahme die höchsten Säurekonzentrationen auf, mit $67,95 \pm 96,09 \mu\text{mol/g}$ für Formiat und $80,53 \pm 113,59 \mu\text{mol/g}$ für Laktat. Damit weist der 10°C Ansatz den einzigen Messwert für Formiat und die höchste Konzentration an Laktat auf. Die Dominanz des 30°C Ansatzes bei der Acetatkonzentration zeigt sich noch deutlicher bezogen auf das Wurzeltrockengewicht. Die Säuremenge pro Wurzelgewicht ist bei 30°C sehr hoch. Die Wurzelgewichte bei 30°C sind deutlich niedriger als die bei 10°C und 20°C. Die Laktat Konzentration nimmt bezogen auf das Wurzelgewicht etwas ab, die Acetat Konzentration nimmt zu.

Die Säurekonzentration wurde auch auf die Wurzeloberfläche bezogen. Die Ergebnisse befinden sich im Anhang ab Seite 56.

1. Ernte Gesamtzuckermenge



Abbildung 16 a

2. Ernte Gesamtzuckermenge



Abbildung 16 b

3. Ernte Gesamtzuckermenge



Abbildung 16 c

4. Ernte Gesamtzuckermenge

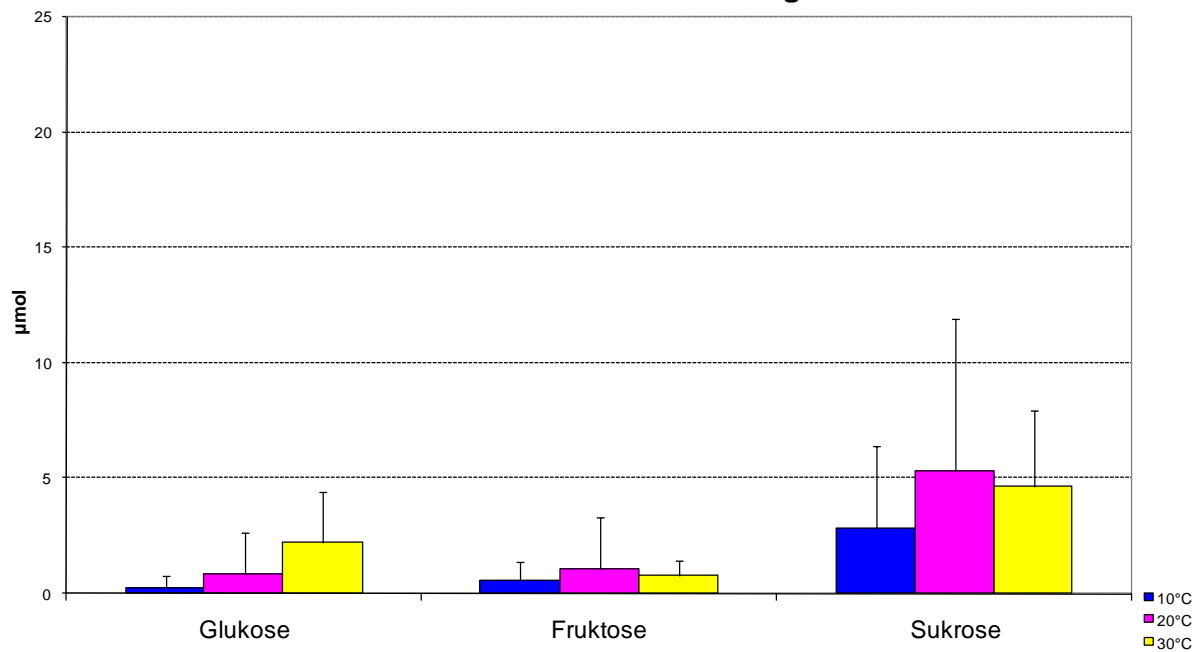


Abbildung 16 d

Abbildung 16 a-d Zuckermengen in den Bodenlösungsproben der drei Temperaturansätze an den 4 Probenahmeterminen.

Zuckermenge für die 4 Probennahmen

Alle drei Zucker (Glukose, Fruktose, Saccharose) wurden in den Proben aller drei Temperaturansätze gefunden. Die Menge des Disaccharides Sukrose/Saccharose ist in der Regel mindestens doppelt so groß wie die Menge der Monosaccharide Glukose und Fruktose. Insgesamt bleiben die Werte unterhalb von 200 μmol . Die größte Saccharosemenge zeigt sich in der 2. Probennahme im 30°C Ansatz ($21,36 \pm 32,78 \mu\text{mol}$). Auch für den 10°C Ansatz wurde hier die größte Menge Saccharose gemessen ($8,3 \pm 10,22 \mu\text{mol}$) (siehe Abb 16.b). Im 20°C Ansatz wurde in den Proben der 3. Probennahme der meiste Zucker gemessen mit Werten für Glukose von $2,52 \pm 4,4 \mu\text{mol}$, für Fruktose $5,56 \pm 6,28 \mu\text{mol}$ und Saccharose mit $14,23 \pm 8,4 \mu\text{mol}$. Die höchsten Werte die für Glukose und Fruktose gemessen wurden fanden sich im 30°C Ansatz mit $4,47 \pm 6,87 \mu\text{mol}$ Glukose und $6,19 \pm 9,2 \mu\text{mol}$ Fruktose. Damit weist der 10°C in der ersten Ernte den meisten Zucker auf. Saccharose nimmt von der ersten auf die 2. Ernte noch zu (von $6,04 \mu\text{mol}$ in der 1. Ernte auf $8,3 \mu\text{mol}$ in der 2. Ernte). Alle weiteren Messwerte für 10°C sind deutlich niedriger. Für 20°C liegen die größten Zuckermengen in der 3. Ernte vor, die Messwerte in den 3 anderen Probennahmen sind deutlich niedriger. Der 30°C Ansatz weist in der 2. Probennahme die größte Zuckermenge auf. Diese Werte sind die höchsten aller 4 Ernten und aller 3 Ansätze. Die Werte für die 3. und 4. Probennahme sind deutlich geringer als die für die 1. und 2. Probennahme.

1. Ernte Zucker pro Wurzeltrockengewicht

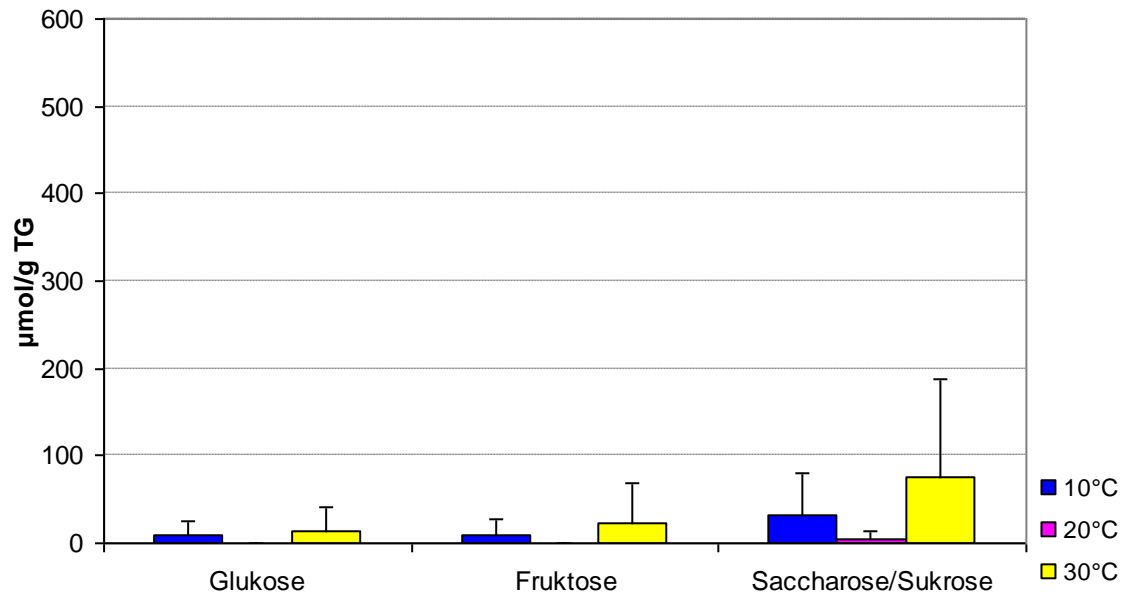


Abbildung 17 a

2. Ernte Zucker pro Wurzelgewicht

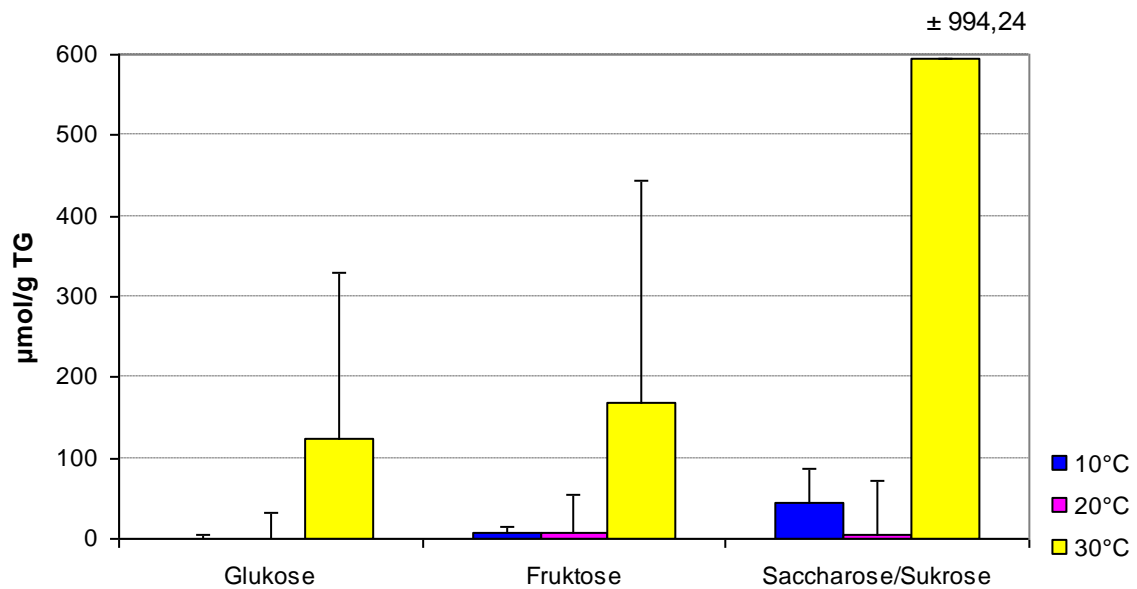


Abbildung 17 b

3. Ernte Zucker pro Wurzeltrockengewicht

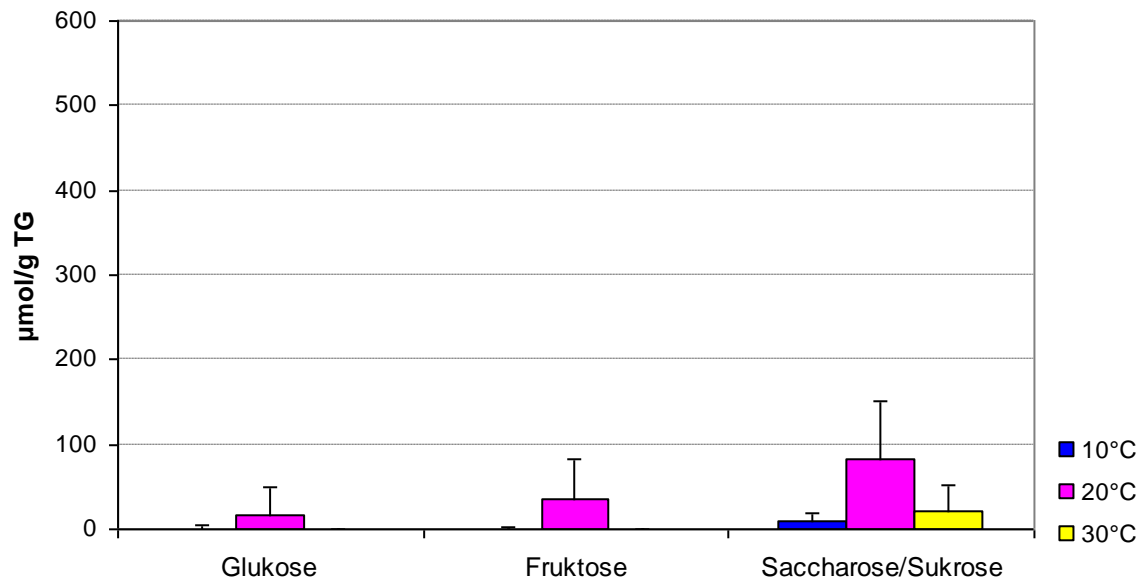


Abbildung 17 c

4. Ernte Zucker pro Wurzeltrockengewicht



Abbildung 17d

Abbildung 17 a-d: Zucker bezogen auf das Wurzeltrockengewicht der Pflanzen des jeweiligen Temperaturansatzes und der jeweiligen Ernte.

Zucker pro Wurzeltrockengewicht:

Bezogen auf das Wurzeltrockengewicht wird die Dominanz des 30°C Ansatzes (vor allem in der 2. Ernte) noch deutlicher. Dort werden maximale Konzentrationen von fast 600µmol/g Wurzeltrockengewicht erreicht. Im 20°C Ansatz finden sich pro Wurzelgewicht in der 1. und 2. Ernte nur verschwindend geringe Zuckerkonzentrationen. In der 3. Ernte werden etwas höhere Konzentrationen für 20°C erreicht, diese bleiben jedoch unterhalb von 100µmol/g Wurzeltrockengewicht. Im 10°C Ansatz findet sich besonders wenig Zucker pro Gramm Wurzeltrockengewicht, die höchsten Werte werden hier in der ersten und zweiten Ernte gemessen. Alle Werte für 10°C bleiben deutlich unter 50µmol/Gramm Wurzeltrockengewicht. In der 4. Ernte findet sich insgesamt in allen drei Ansätzen kaum noch Zucker.

Die Zuckerkonzentration wurde auch auf die Wurzeloberfläche bezogen. Die Ergebnisse befinden sich im Anhang ab Seite 58.

Diskussion:

In Bezug auf Wurzeloberfläche, Frisch und Trockengewichte von Spross und Wurzeln und die Anzahl der Blätter liegen die Werte für die Pflanzen aus dem 20°C Ansatz deutlich höher als die für 10°C. Die Werte für 30°C sind die Niedrigsten. Das spezifische Wurzelgewicht für die drei Temperaturansätze liegt jedoch für alle Ansätze im gleichen Bereich. Es zeigt sich ebenfalls für alle drei Ansätze eine stärkere Zunahme der Wurzeloberfläche während das Wurzeltrockengewicht recht konstant bleibt. Eine mögliche Erklärung dafür kann die Bildung von Aerenchymen zur Verbesserung der Sauerstoffzufuhr in die Wurzel sein. Es wurde beschrieben, dass sowohl der Spross als auch die Wurzeln von *Salix variegata* Aerenchyme bilden können (CHEN et al. 2007). Die Sauerstoffkonzentrationen im Substrat, die in den drei Ansätzen gemessen wurden waren um 2-3mg/L gegenüber der möglichen Sauerstoffsättigung reduziert. Dies ist ein Indiz dafür, dass Respirationsprozesse in der Rhizosphäre abliefen. Es kommen dabei sowohl Wurzelatmung als auch mikrobieller Stoffwechsel in Frage. Es muss dabei jedoch berücksichtigt werden, dass eine Punktmessung nur einen winzigen Ausschnitt der tatsächlichen Sauerstoffverhältnisse in der Rhizosphäre abbilden kann. Daten zur Photosynthese von LUO (unpubl.) zeigen, dass *Salix variegata* in staunassem Substrat bei photosynthetisch aktiven Lichtmengen im Bereich von 80-100µEinstein eine Photosyntheseleistung von maximal $4,87\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ erbringen kann. Das ist etwa 1/3 dessen was bei intensiver Sonneneinstrahlung (1000-1500µE) erreicht werden kann. Bei völliger Überflutung fanden SCHREIBER et al. (unpubl.) in der Bodenlösung von *Salix variegata* niedrige, zum Teil abnehmende Säuremengen. Als dominierende Säureformen wiesen sie Formiat und Laktat nach. Acetat machte ebenfalls einen nennenswerten Teil der gesamten Säuremenge aus. Dies deckt sich mit den Ergebnissen die im vorliegenden Versuch bei Staunässe gefunden wurden. Formiat wurde hier allerdings nur einmal, im 10°C Ansatz, gefunden. Acetat war die

dominierende organische Säure gefolgt von Laktat. Wie auch im in dieser Arbeit beschriebenen Versuch zeigten sich im Versuch von SCHREIBER et al. (unpubl.) Konzentrationsmaxima in einzelnen Probennahmen nach denen die Konzentrationen stark abfielen. In geringen Mengen wurden bei völliger Überflutung (neben anderen, hier nicht betrachteten Säuren) auch Oxalat, Succinat und Citrat nachgewiesen (SCHREIBER et al. unpubl.). Mit einer Ausnahme, einem hohen Oxalat Messwert im 30°C Ansatz, wurde im vorliegenden Versuch keine der genannten Säuren in nennenswerten Mengen nachgewiesen. Die Konzentrationen der Säuren im Überflutungsversuch von SCHREIBER et al. (unpubl.) sich in den ersten Wochen bei 20°C unter 10 µmol/g TG und bei 30°C unter 5µmol/g Trockengewicht. Die ermittelten Säuremengen im dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuch während 37 Tagen staunassen Bedingungen lagen unterhalb 200µmol/g Wurzeltrockengewicht (mittlere Wurzeltrockengewichte(TG) zwischen 0,14 und 0,22g). Dabei lagen alle Säurekonzentrationen im 10°C Ansatz unter 100µmol/g TG, im 20°C Ansatz lagen sie bei maximal 50µmol/g TG nur im 30°C Ansatz erreichten sie in der ersten Ernte Werte über 180µmol/g TG. In den drei weiteren Probennahmen lagen die Konzentrationen für 30°C unterhalb von 40µmol/g TG. Damit liegen die unter Staunässe gemessenen Säurekonzentrationen im durchschnitt in der gleichen Größenordnung wie die unter völliger Überflutung gemessenen Werte. Auch im Überflutungs-Versuch von SCHREIBER et al. (unpubl.) genauso wie im hier beschriebenen Versuch bei 37Tagen Staunässe starben Pflanzen im 30°C Ansatz ab und es zeigten sich bei 30°C besonders ausgeprägte, bei 20°C geringe und bei 10°C kaum noch Blattverluste und -verfärbungen.

Die gefundenen Unterschiede in der Zusammensetzung und dem zeitlichen Auftreten von Zuckern und Säuren in den drei Temperaturansätzen deuten darauf hin, dass ein Temperatureinfluss auf die Wurzelexsudation existiert. Auf einen möglichen Temperatureinfluss auf die Art und Zusammensetzung der Wurzelexsudate deutet allerdings nur hin, dass Formiat ausschließlich im 10°C Ansatz und Oxalat nur bei 30°C nachgewiesen werden konnte. Bereits zu Beginn (Tag 22.) treten größere Mengen an Acetat und Lactat auf. Dabei handelt es sich um typische Gärungsprodukte. Dies deutet auf beginnenden Sauerstoffmangel in der Rhizosphäre hin. Bei 30°C findet sich eine besonders hohe Acetat Konzentration. Aufgrund der erhöhten Stoffwechselraten die bei 30°C gegenüber 20°C und 10°C zu erwarten sind, dürfte auch eine größere Sauerstoffzehrung stattfinden. Da die Sauerstofflöslichkeit bei 30°C zudem geringer ist als bei niedrigeren Temperaturen werden in diesem Ansatz stärker hypoxische Verhältnisse erreicht.

Vor allem Saccharose wurde in größeren Mengen gemessen (mindestens doppelt soviel wie Glukose und Fruktose). Beim Disaccharid Saccharose handelt es sich um ein Spaltprodukt der Stärkemobilisierung, das wiederum aus Glukose und Fruktose zusammengesetzt ist. Die hohe Saccharosekonzentration könnte ein Indiz dafür sein, dass die Pflanzen Reservestoffe mobilisieren um bei einem erhöhten Zuckerumsatz und verringerten Wirkungsgrad bei Gärungsprozessen trotzdem ihren (erhöhten)

Energiebedarf decken zu können. Gärungsprozesse verursachen wegen der geringeren Energieausbeute (2 ATP aus 1 Moleküle Zucker/Pyruvat gegenüber aus 3 ATP bei oxidativer Phosphorylierung) einen erhöhten Zuckerumsatz (RICHTER 1996).

Die Abnahme der Zuckermengen in den beiden letzten Ernten lässt sich durch mikrobiellen Abbau, oder durch Wiederaufnahmemechanismen der Pflanzenwurzeln erklären. Dass der Zuckerabbau nicht viel eher erfolgte kann in der Verzögerung der Abbauprozesse durch den Sauerstoffmangel begründet sein.

Im 20°C Ansatz tritt in etwa die gleiche Dynamik auf, nur zeitlich verzögert. Säuren, vor allem Acetat und Laktat, treten verstärkt in der 1. und 2. Ernte auf. Jedoch in weitaus geringeren Konzentrationen als bei 30°C. Zucker treten vor allem in der dritten Ernte auf. Dies lässt sich dadurch erklären, dass der Stoffwechsel und die Sauerstoffzehrung der Wurzeln in 20°C geringer sind.

Der Sauerstoffmangel tritt später und schwächer auf. Daher kommt es nur in einem geringeren Umfang zu Gärungsprozessen. Vor allem Milchsäuregärung scheint eine größere Rolle zu spielen. Im 10°C Ansatz treten in der 1. Ernte Acetat und Laktat auf. Acetat und Laktat können aus Gärungsprozessen in Wurzelzellen stammen oder Stoffwechselendprodukte von Mikroorganismen darstellen. Insgesamt zeigt sich für alle Ansätze in der 2. und 3. Ernte sehr viel weniger Säure. Möglicherweise drosseln die Pflanzen ihre Stoffwechselprozesse als Reaktion auf den oxidativen Stress. Der 10°C Ansatz weist in der 4. Ernte erhöhte Formiat und Laktat Konzentrationen auf. Dies deutet daraufhin, dass zu diesem Zeitpunkt eine Sauerstoffkonzentration erreicht wurde bei der vermehrt Gärungsprozesse auftraten.

Milchsäuregärung setzt bei Sauerstoffmangel in Wurzeln und keimenden Samen rasch ein. Milchsäure führt im Cytosol jedoch zu letaler Übersäuerung und wird daher schnell nach Außen abgegeben. Die Milchsäuregärung wird nach kurzer Zeit von der alkoholischen Gärung abgelöst (RICHTER 1996). Auch verschiedene fakultativ Anaerobe Bakterien erzeugen bei der Gärung Laktat und Acetat. Weitere Gärungsarten wie die Malolaktische Gärung, bei der Malat zu Laktat umgewandelt wird und die Ameisensäuregärung bei der Formiat entsteht finden sich bei fakultativ anaeroben Bakterien. Heterofermentative Milchsäurebakterien sind in der Umgebung von Pflanzen häufig anzutreffen. Sie bauen hauptsächlich Zucker und organische Säuren ab (UNDEN & ZAUNMÜLLER 2009). Allgemein wird eine schnelle Umsetzung von Wurzelexsudaten durch Mikroorganismen beschrieben (KUZYAKOV & DOMANSKI. 2000). BODDY et al. zeigten (2007), dass Glukose und Aminosäuren in Bodenlösung in situ eine sehr kurze Halbwertszeit haben ($t_{1/2}$ = 20-40min.). Es ist also davon auszugehen, dass die nachgewiesenen Zucker zeitnah zur Probenahme freigesetzt worden sein müssen. Mikroorganismen gelten prinzipiell als wesentliche Senke für photosynthetisch fixierten Kohlenstoff im Boden (Kaštovská & Šantrůčková 2007). Acetat erzeugende Bakterien oxidieren Zucker und Alkohol zu Acetat, das sich schnell im Medium anreichern kann. Ihre Aktivität ist an eine gute Sauerstoffversorgung gebunden (GUILLAMÓN & MAS 2009). Milchsäurebakterien produzieren als typisches Endprodukt des anaeroben Glukoseabbaus Laktat (KÖNIG & FRÖHLICH 2009) sie sind damit auch bei Sauerstoffmangel zum Abbau organischer Substanzen in der Lage.

Es ist anzunehmen, dass es sich bei den gefundenen Kohlenstoffverbindungen weniger um neu gebildete Photosyntheseprodukte als eher um Anzeichen für die Mobilisierung von Stärkespeichern als Reaktion auf eintretendem Sauerstoffmangel handelt.

Würde es sich bei den gefundenen Substanzen um relativ zeitnah fixierte Photosyntheseprodukte handeln wäre zu erwarten, dass mit erhöhter Blattanzahl und Gesamtmasse der Pflanzen auch die Menge der Exsudate zunehmen sollte. Der 30°C Ansatz weist insgesamt die größten Zucker und Säuremengen auf besitzt gleichzeitig aber die geringste Blattanzahl und Gesamtmasse. Bei 20°C, wo die Blattanzahl und Pflanzenmasse am größten waren, sollte dementsprechend die höchste Konzentration von Kohlenstoffverbindungen in der Bodenlösung zu finden sein, die ist jedoch nicht der Fall. (siehe Pflanzenparameter im Anhang Seite 46 und 47 Tabelle 1 und 2). Da die Sprosse alle die gleiche Temperatur haben dürfte es keinen Temperatureinfluss auf die Photosyntheseleistung geben. Auch lässt sich durch die Photosyntheserate nicht die plötzliche Zu- und Abnahme der Säure- und Zuckerkonzentrationen innerhalb weniger Tage erklären. So schnelle Freisetzung größerer Mengen von Kohlenstoffverbindungen lässt sich nur durch massive Mobilisierung von Reservestoffen erklären. Daten von YE (unpubl.) zeigen eine Abnahme von feinkörniger Wurzelstärke ab dem 40. Tag unter staunassen Bedingungen. Blatt und Spross-Stärke nehmen in den ersten 40 Tagen Staunässe stark ab, ab dem 40 Versuchstag nehmen sie dann jedoch wieder stark zu. Es ist zu vermuten, dass dies auf eine Energie intensive Anpassung an die staunassen Bedingungen durch Bildung von Aerenchymen und eine Überbrückung der Sauerstoffknappheit durch Gärung zurückgeführt werden kann. Nach der Bildung von Aerenchymen kann die Wurzel besser mit Sauerstoff versorgt werden, die ineffizienten Gärungsprozesse können beendet werden und es ist wieder Wachstum und Einlagerung von Reservestoffen möglich. Die von YE (unpubl.) gefundenen Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass eine Freisetzung mobilisierter Reservestoffe auftritt und zu den gefundenen Zuckermengen in der Bodenlösung beiträgt. Es ist nicht davon auszugehen, dass Verluste von Kohlenstoffverbindungen aus der Bodenlösung durch die Adsorption von Substanzen an Bodenpartikel einen Einfluss auf die gefundenen Mengen ausgeübt haben. Das Glassubstrat ist inert und ungeladen und enthält keinerlei Metalle, die in Böden hauptverantwortlich für die Adsorption organischer Säuren sind. Bei Zuckern ist ohnehin keine Adsorption zu erwarten, da sie selbst keine Ladungen tragen und daher keine Bindungen zu Substratpartikeln eingehen. Aus diesem Grund erscheint das Glassubstrat für die Quantifizierung von organischen Säuren und Zuckern gut geeignet.

Es wurden zahlreiche Daten zum Einfluss von Nährstoffmangel auf die Wurzelexsudation veröffentlicht (NEUMANN & RÖMHELD 2001). In der Regel handelt es sich dabei um die Abgabe größerer Mengen von Citrat. Es spricht jedoch nichts dafür, dass ein Nährstoffmangel für die beobachteten Effekte im hier beschriebenen Versuch mit *Salix variegata* verantwortlich sein könnte.

Salix variegata toleriert sehr nährstoffarme Bedingungen. Die Pflanzen können selbst auf extrem nährstoffarmen Weißsandstandorten wachsen (LUO et al. 2007).

Von LUO und SCHREIBER wurde 10% Hoagland-Nährlösung verwendet. Unter diesen Bedingungen konnten Wachstum, Photosynthese, Bildung von Adventivwurzeln und die Exsudation von organischen Säuren belegt werden.

Im vorliegenden Versuch wurde sogar 15% Hoagland-Nährlösung verwendet.

Die gemessenen Werte für Spross und Wurzelgewicht sowie für die Wurzeloberfläche zeigen, dass die Pflanzen im Versuchsaufbau wachsen und an Biomasse zunehmen konnten. Sie konnten demnach ausreichend Photosynthese betreiben und notwendige Nährstoffe aufnehmen.

Ein Einfluss mechanischer Verletzungen bei der Ernte der Pflanzen kann zur Freisetzung größerer Mengen organischer Substanzen führen und damit die Messungen verfälschen. Dieses Risiko wurde dadurch minimiert, dass Substrat und Wurzeln gemeinsam aus dem Topf gelöst und in den Filter überführt wurden. Erst nach dem Absaugen der Bodenlösung wurden die Wurzeln aus dem Substrat herausgelöst.

Dieser Versuch diene in erster Linie dem Test und der Entwicklung des Versuchsaufbaus und der Untersuchungsmethoden zum Nachweis und zur Quantifizierung Organischer Säuren mit niedrigem Molekulargewicht (Acetat, Lactat, Citrat, Oxalat, Formiat, Succinat t) sowie dem Nachweis und der Quantifizierung von Zuckern (Saccharose/Sukrose, Glukose, Fruktose) aus Bodenlösungsproben. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass ein Temperatureffekt auf die Quantität und die zeitliche Dynamik/das zeitliche Auftreten von Säuren und Zuckern zu beobachten ist. Einen Einfluss auf die Qualität der Exsudate kann man nur am Auftreten von Oxalat, dass nur bei 30°C gefunden und wurde, und von Formiat festmachen, dass nur bei 10°C nachgewiesen werden konnte.

Darüber ob bei einer längeren Versuchslaufzeit die internen Reserven der Pflanzen aufgebraucht würden kann nur spekuliert werden. Die erwähnten Ergebnisse von YE (unpublished) zeigen jedoch, dass zu einem späteren Zeitpunkt (nach Tag 40 der staunassen Bedingungen) eine Zunahme der Stärkekonzentration in der Pflanze beobachtet werden konnte. Dies deutet daraufhin, dass durch erfolgte Anpassungsprozesse, wie die Bildung von Aerenchymen, eine Verbesserte Sauerstoffversorgung der Wurzeln erfolgen kann und daher weniger Verluste durch ineffektive anaerobe Energiegewinnung auftreten.

Evaluation des Versuchsaufbaus und der Messmethoden

Der Versuch hat gezeigt, dass es mit diesem Versuchsaufbau prinzipiell möglich ist Aussagen über Qualität und Quantität von Kohlenstoffverbindungen in der Rhizosphäre zu treffen. Es ist nicht möglich die gefundenen Substanzen eindeutig als Exsudate oder mikrobielle Stoffwechselprodukte zu klassifizieren.

Damit sind auch keine Aussagen darüber möglich inwieweit ein Abbau und Umwandlung von Exsudaten stattgefunden hat.

Um die in der Bodenlösung gefundenen Substanzen einer Quelle, zeitnahe Fixation in der Photosynthese, Abbau von Speicherstoffen oder abgestorbenem Pflanzenmaterial oder mikrobiellen Prozessen, zuordnen zu können wäre eine Behandlung mit radioaktiv markierten Kohlenstoffisotopen zu erwägen. So ließe sich der Weg des Kohlenstoffes durch den Versuchsaufbau eher nachvollziehen.

Zumindest die Kohlenstoffverbindungen die innerhalb des Zeitraumes der radioaktiven Markierung photosynthetisch erzeugt wurden könnten identifiziert und

quantifiziert werden. Es würde dadurch auch vermieden, dass Abbauprodukte toter Wurzeln miteinbezogen würden.

Um die umfangreichen und komplexen mikrobielle Einflüsse in der Rhizosphäre sauber von der eigentlichen Wurzelexsudation trennen zu können ist zu prüfen ob es umsetzbar ist einen vergleichbaren Versuchsansatz unter sterilen Bedingungen zu erzeugen. Dabei ist zu beachten, dass der Vergleich von sterilem und unsterilem Rhizosphärogeneschehen wichtig ist um ein möglichst realistisches Bild der Exsudation zu bekommen. In der Literatur wurden zahlreiche Einflüsse von mikrobiellen Stoffwechselprodukten auf die Exsudation beschrieben. Diese können sowohl die Exsudation bestimmter Substanzen und das Wachstum der Wurzel fördern als auch in parasitischen oder pathogenen Interaktionen die Wurzel schädigen, Exsudate abbauen oder umwandeln. Wird eine Substanz schnell aus der Bodenlösung entfernt hält dies das steile Konzentrationsgefälle zwischen Cytosol und Bodenlösung aufrecht und fördert somit die Diffusion dieser Substanz aus der Wurzel in die Bodenlösung. Die Akkumulation von Stoffwechselprodukten kann die Wurzel schädigen.

Die Zuckerkonzentrationen, die in diesem Versuch auftraten liegen nahe der Messschwelle/Auflösung der enzymatischen Zuckerbestimmung. Es wäre zu prüfen ob es geeignetere Methoden mit einer besseren Auflösung im Bereich sehr kleiner Zuckerkonzentrationen gibt.

Für geringe Probenvolumina entstehen durch Gefriertrocknung Schwankungen im Grad der Aufkonzentrierung. Möglicherweise könnte man diesen Effekt dadurch umgehen, dass die Proben maximal eingetrocknet und mit definierten Flüssigkeitsmengen wiederaufgelöst würden. Dies müsste zuvor mit Zuckerstandards geprüft werden um sicherzustellen, dass sich die Zucker aus der Probe wieder vollständig lösen lassen.

Um Dynamiken in der Rhizosphäre von *Salix variegata* besser erfassen zu können wäre es nützlich den Versuch unter Gleichen Versuchsbedingungen Bedingungen in einem Rhizotron zu wiederholen. Dieses Gerät ist speziell zur Beprobung des Wurzelraumes entwickelt worden. Mit einer minimal-invasiven Methode, der Beprobung mit Hilfe von Mikrosaugkerzen, ist die Beprobung einer einzelnen Pflanze über einen längeren Zeitraum möglich. Dabei können Unterschiede in der Zusammensetzung der Rhizosphäre in Millimeterabständen entlang der Wurzel erfasst werden.

Eine Vollernte des Pflanzenmaterials erleichtert jedoch die Erfassung von Biomasse-Veränderungen und die Messung von Wurzeloberfläche, Wurzelvolumen sowie der Verteilung von Wurzeldurchmesser und Verzweigungsgrad, die bei lebenden Pflanzen kaum zu ermitteln sind.

Der Nachteil der Vollernte ist, dass nur ein einziger Einblick in die Zusammensetzung der Bodenlösung möglich ist. Hinzu kommen die starken Unterschiede die zwischen einzelnen Pflanzenindividuen gefunden wurden und die Vergleichbarkeit der Messwerte erschweren.

Es ist nicht genau vorhersagbar ob eine veränderte Belichtung tatsächlich auch die Wurzelexsudation erkennbar erhöhen würde. Allerdings ist davon auszugehen, dass die Menge der verfügbaren Kohlenstoffverbindungen sich mit der

Photosyntheseleistung steigert und dadurch mehr Photosyntheseprodukte in die Lösung diffundieren. Außerdem wurde ein hoher Anteil junger Photosyntheseprodukte in Bodenlösungen nachgewiesen (KUZYAKOV & DOMANSKI 2000; Kaštovská & Šantrůčková 2007).

Was dies jedoch quantitativ unter diesen Versuchsbedingungen bedeuten würde darüber kann hier nur spekuliert werden. Es ist fraglich ob der vielfach beschriebene Einfluss von Nährstoffmangel, der zu erhöhter Exsudation organischer Säuren zur Mobilisierung von Nährstoffen führt, in *Salix variegata* zu beobachten wäre, die nährstoffarme Bedingungen sehr gut toleriert (LUO et al 2007; SCHREIBER unpubl.) Es wurde auch beschrieben, dass erhöhte Exsudation organischer Säuren zu Entgiftung von Schwermetallen im Boden erfolgt. Da die Wurzelexsudate jedoch für die Ernährung von Mikroorganismen in der Plant-Microbial Fuel Cell von Interesse sind macht eine Behandlung mit Schwermetallen keinen Sinn, da sie voraussichtlich die Mikroorganismen schädigen und die elektrochemischen Prozesse in der Fuel Cell stören, wenn nicht sogar verhindern würde.

Quellen:

P.J.Hocking and S. Jeffery

„Cluster-root production and organic anion exsudation in a group of old-world lupins and new-world lupins”

Plant and Soil 2004

B. Dinkelaker, G. Hahn, V. Römheld, G.A. Wolf, H.Marschner

„ Non-destructive methods for demonstrating chemical changes in the rizosphere I. Description of methods”.

Plant and soil 155/156: 67-70 1993

Y. Kuzyakov, H. Ehrensberger, K.Stahr

“Carbon input by plants into the soil. Review“

J. Plant Nutr. Soil Science (2000) 163; 421-431

S.J. Graystone, D. Vaughan, D. Jones

“Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability”

Applied Soil Ecology 5 (1996) 29-56

Eva Kaštovská & Hana Šantrůčková

“Fate and dynamics of recently fixed C in pasture plant–soil system under field conditions”

Plant Soil (2007) 300:61–69

FL Luo, B Zeng, T Chen 2007

“Photosynthesis and growth of riparian plant *Salix variegata* Franch. In Three Gorges Reservoir region responding to simulated flooding”

Acta Phytocologica Sinica, 2007

Christina Schreiber, Bo Zeng, Uli Schurr, Agnes Höltekemeier, Arnd Kuhn

„Dynamics of organic acid occurrence under flooding stress in the rhizosphere of 3 species from the water fluctuation zone of Three Gorges Reservoir, P.R.China in preparation

Elizabeth Boddy, Paul W. Hill, John Farrar, David L. Jones

„Fast turnover of low molecular weight components of the dissolved organic carbon pool of temperate grassland field soils”

Soil Biology & Biochemistry 39 (2007) 827-835

Toril D. Eldhuset

„Short Communication- Minor effects of nitrogen availability on organic-acid exudation from roots of young *Picea abies* plants”

J. Plant Nutrition Soil Science 2005, 168, S. 341-342

Gerhard Richter
„Biochemie der Pflanzen“
1996, Auflage 1
Kapitel 4, S. 226-229
Georg Thieme Verlag (Stuttgart/New York)

“The Release of Root Exudates as Affected by the Plant’s Physiological Status”
Günter Neumann and Volker Römheld
Buch: “The Rhizosphere” 2001
Kapitel 3, S. 41-93
Pinton, Varanini, Nannipieri (eds.)

David L. Jones
„Organic acids in the Rhizosphere- a critical review”
Plant and Soil 205: S. 25-44, 1998

Bjarne W. Strobel
„Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil solution- a review”
GEODERMA 99 (2001) 169-198

P. R. Darrah
“The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach”
Plant and Soil 155/156: 1-20, 1993

Dayakar V. Badri & Jorge M. Vivanco
“Regulation and function of root exudates”
Plant, Cell and Environment (2009) 32, 666-681

M. Ugrinovits
« Zuckeranalyse mit GC, HPLC, DC und enzymatisch - Ein Vergleich der Methoden »
Chromatographia Vol. 13 No. 7. July 1980

J.M. Tiedje, A. J. Sexton, T.B. Parkin, N.P. Revsbech and D.R. Shelton
„Anaerobic processes in soil“
Plant and Soil 76, 197-212 (1984)

S. Alban, W. Blascheck
Kapitel 18- „Kohlenhydrate I: Chemie, wichtige Mono- und Oligosaccharide „
Kapitel 19- „Kohlenhydrate II: Polysaccharide und Polysaccharidhydrogen“
R. Hänsel, O. Sticher (eds.)
„Pharmakognosie- Phytopharmazie“
8. überarbeitete und aktualisierte Ausgabe
Springer 2007

Chen Ting; Zeng Bo; Luo Fang-Li; Ye Xiao Qi; Liu Dian
„Effects of exogenous ethylene and alpha-naphthalene acetic acid on aerenchyma formation in the stem of two riparian plant species *Arundinella anomala* and *Salix variegata* in the three gorges reservoir region of China”
Zhiwu Shengtai Xuebao 31 (5): 919-922 SEP 2007
Artikel chinesisch, zitiert aus Abstract

H. König and J. Fröhlich
Kapitel 1: Lactic Acid Bacteria- Introduction S. 3
Kapitel 2: Acetic acid Bacteria - Introduction S. 31
J.M. Guillamón and A. Mas
Kapitel 7: Metabolism of Sugars and Organic Acids by Lactic Acid Bacteria from Wine and Must
G. Uden and T. Zaubmüller
„Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and Wine”
König, Helmut; Uden, Gottfried; Fröhlich, Jürgen (Eds.)
Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009

Xiao qi Ye
unveröffentlichte Daten zu Stärkekonzentrationen in *Salix variegata*
Persönliche Kommunikation

E. Paterson, T. Gebbing, C. Abel, A. Sim, G. Telfer
„Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil”
erschienen 2006
New Phytologist (2007)
173: 600-610

D. S. Lipton, R.W. Blanchard & D. Blevins
« Citrate, Malate and Succinate concentration in exudates from P-sufficient and P-stressed *Medicago sativa* seedlings. »
Plant Physiology 1987
85, S. 315-317

G.A. Truesdale, A.L. Downing, G. F. Lowden
“The solubility of oxygen in pure water and sea water”
Journal of Applied Chemistry
Vol. 5 Issue 2 Pages: 53-62

Anhang:

A.1. Sauerstoffmessungen:

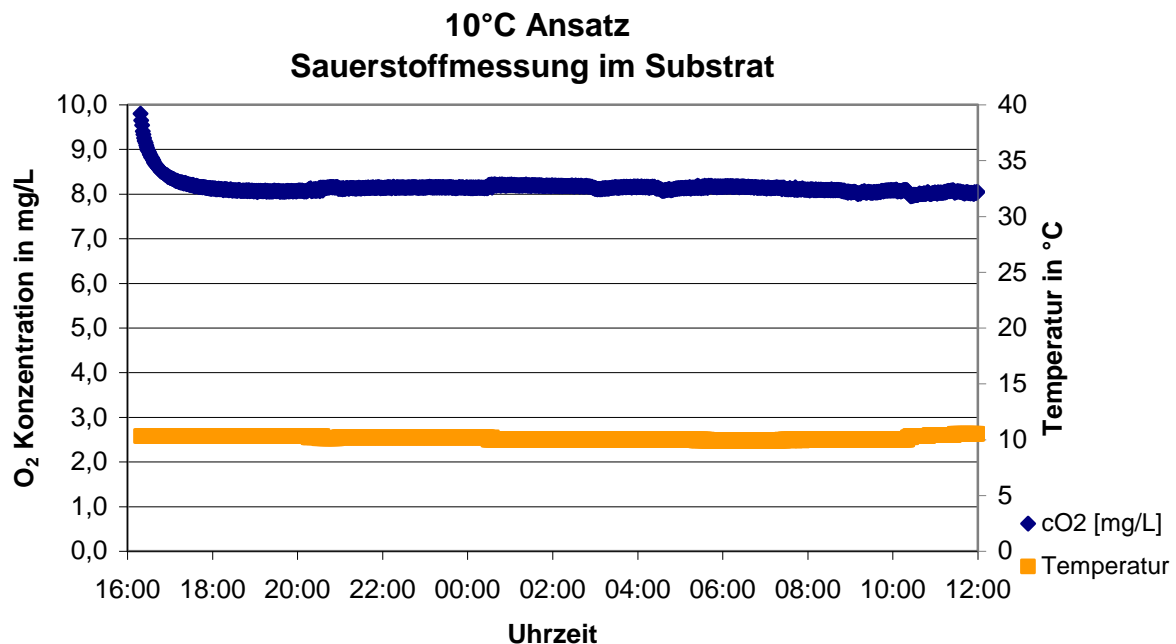


Abb.18: Sauerstoffmessung im Substrat einer Pflanze im 10°C Ansatz

Bei 10°C beträgt die maximale Sauerstoffsättigung in Wasser (TRUESDALE et al. 1955) 10,92 mg/L (10,67mg/L bei 11°C). Der höchste gemessene Wert im Substrat des 10°C Ansatzes lag mit 9,8mg/L um 1,12mg/L niedriger. Dabei ist jedoch davon auszugehen, dass dieser Wert dadurch zustande gekommen sein kann, dass beim Einbringen der Sauerstoffoptode atmosphärischer Sauerstoff ins Substrat eingebracht wurde. Nach zwei Stunden ist die Sauerstoffkonzentration von 9,8 auf 8,1mg/L gesunken. Sowohl im Verlauf des abends und der Nacht als auch im Laufe des folgenden Vormittages bleibt die Sauerstoffkonzentration zwischen 8,0 und 8,2mg/L konstant. Es zeigt sich weder eine erkennbare Abnahme während der Dunkelphase in den Nachtstunden noch eine deutliche Zunahme mit Eintritt der Lichtphase. Die Sauerstoffmesswerte liegen bis zu 2,92 mg/L unter der maximal möglichen Sauerstoffsättigung.

20°C Ansatz Sauerstoffmessung im Substrat

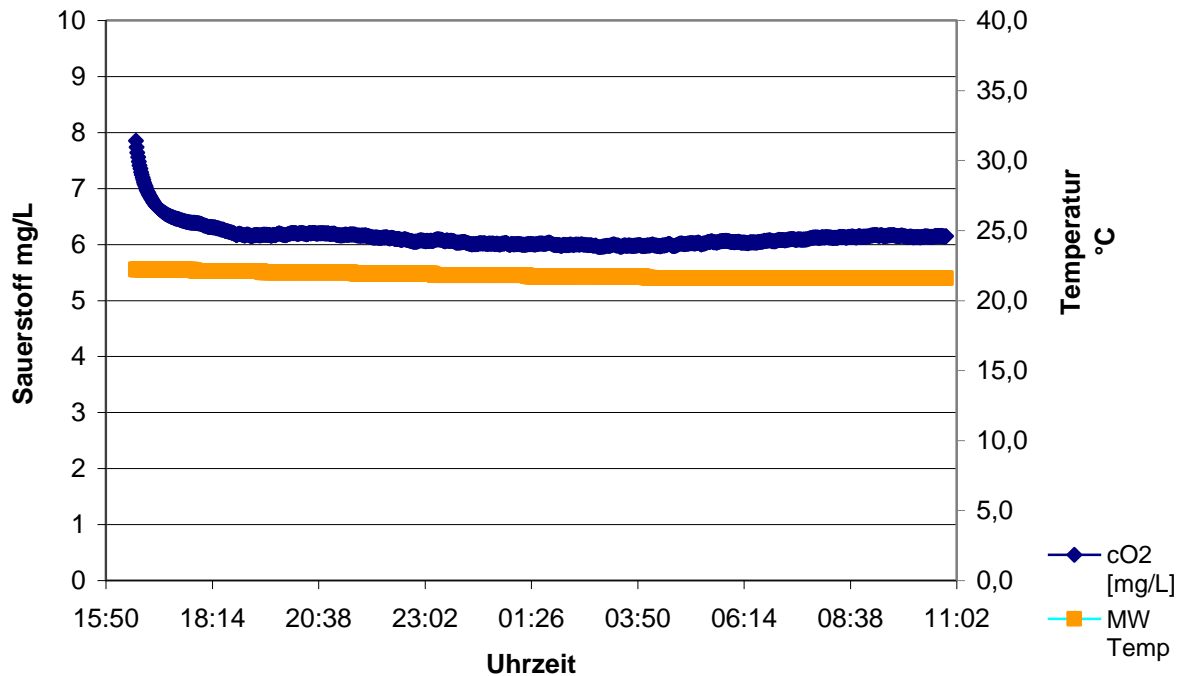


Abb. 19: Sauerstoffmessung im Substrat einer Pflanze des 20°C Ansatzes

In 20°C warmem Wasser ist eine maximale Sauerstoffsättigung von 8,84mg/L (8,68mg/L für 21°C) unter Standard Luftdruck Bedingungen möglich. Die im Substrat gemessenen Werte lagen mit maximal 7,85mg/L nach Einbringen der Optode und minimal 6,0mg/L im Verlauf der Dunkelphase um bis zu 2,68mg/L niedriger als die mögliche Sauerstoffsättigung. In den ersten zwei Stunden der Messung fällt der Messwert von 7,85 auf 6,16, zwischen 21:20 und ca. 8:20 liegt er im Bereich von 6,0-6,09mg/L. Gegen 8°° beginnt der Wert anzusteigen und erreicht bis zum Ende der Messung um 10:48 wieder einen Wert von 6,15mg/L.

Im 20°C Ansatz lässt sich also ein, wenn auch minimaler Rückgang der Sauerstoffkonzentration während der Dunkelphase und eine leichte Zunahme der Sauerstoffkonzentration nach Eintritt der Lichtphase beobachten.

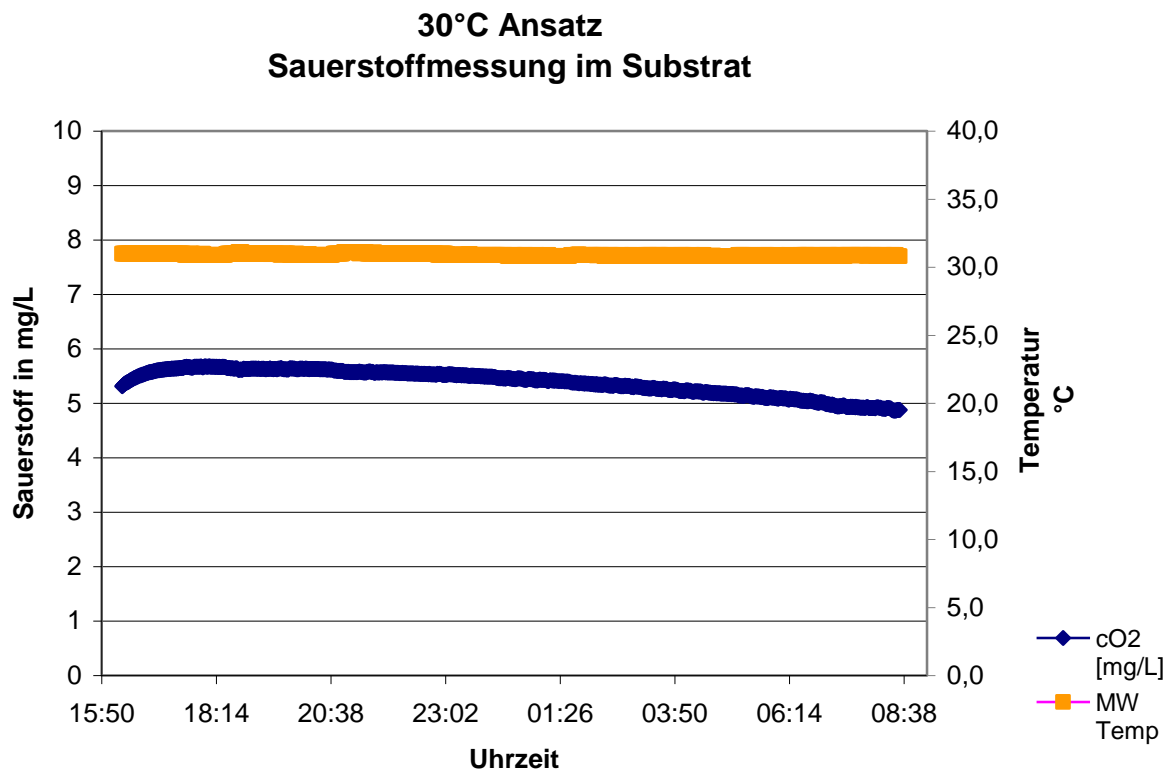


Abb. 20: Sauerstoffmessung im Substrat einer Pflanze im 30°C Ansatz.

In 30°C warmem Wasser ist eine Sauerstoffsättigung von 7,53mg/L erreichbar (7,42mg/L bei 31°; Sättigung bei Standardluftdruck), (nach Truesdale, Downing und Lowden 1955).

Der höchste gemessene Wert liegt mit 5,66mg/L um 1,87mg/L niedriger. Der niedrigste gemessene Wert lag mit 4,88mg/L um 2,68mg/L niedriger als die mögliche Sauerstoffsättigung. Der niedrige Wert zu Beginn der Messung verglichen mit den hohen Anfangswerten der anderen beiden Messungen lässt sich dadurch erklären, dass sich die Optode bereits vor Beginn der Messung im Substrat befand. Bis zum Ende der Lichtphase bleibt die Sauerstoffkonzentration im Bereich zwischen 5,34 und 5,66mg/L. Ab etwa 1-2Uhr morgens fällt die Sauerstoffkonzentration kontinuierlich ab, von noch 5,32 mg/L um ca. 2:00 auf 4,88mg/L zum Ende der Messung um 8:33.

Es ist zu beachten, dass es sich bei den durchgeführten Sauerstoffmessungen um Punktmessungen handelt, die kein Gesamtbild der Sauerstoffverhältnisse im Wurzelraum liefern können.

PH-Werte:

<u>Datum</u>	<u>Zeit</u>	<u>10°</u>	<u>20°</u>	<u>30°</u>
27.04.	16:10	7,0	7,1	7,3
13.05.	10:30	7,3	7,3	7,3

Gemessen wurde ca. 5 Minuten bis zum Erreichen eines stabilen Wertes

Die in der Lösung gemessenen pH-Werte liegen im Versuchszeitraum im Bereich zwischen 7,0 und 7,3.

A2. Pflanzenparameter

Tabelle 1 : Pflanzenparameter

1. Ernte	2. Ernte	3. Ernte	4. Ernte
10°C	10°C	10°C	10°C
3,072 ± 1,918	2,534 ± 1,137	2,38 ± 1,043	2,84 ± 0,77
0,132 ± 0,069	0,218 ± 0,109	0,18 ± 0,087	0,24 ± 0,07
1459,273 ± 794,057	1486,315 ± 479,106	2509,627 ± 949,289	4189,01 ± 1118,79
10,286 ± 4,864	6,18 ± 2,027	6,936 ± 1,93	5,95 ± 1,214
5,072 ± 1,336	2,16 ± 0,787	2,236 ± 0,785	2,02 ± 0,66
321 ± 219	212 ± 118	185 ± 67	199 ± 74
1. Ernte	2. Ernte	3. Ernte	4. Ernte
20°C	20°C	20°C	20°C
4,892 ± 1,138	2,574 ± 1,672	2,448 ± 1,361	2,45 ± 0,6
0,202 ± 0,069	0,238 ± 0,142	0,208 ± 0,090	0,24 ± 0,05
1971,932 ± 270,128	2577,177 ± 534,347	3014,17 ± 1278,11	3346,17 ± 1059,45
8,796 ± 2,098	7,846 ± 4,461	7,226 ± 3,11	9,32 ± 1,36
4,716 ± 1,137	2,536 ± 1,287	2,55 ± 1,20	2,81 ± 0,41
251 ± 94	283 ± 173	234 ± 100	348 ± 78
1. Ernte	2. Ernte	3. Ernte	4. Ernte
30°C	30°C	30°C	30°C
1,835 ± 0,965	1,568 ± 0,926	1,37 ± 0,38	1,488 ± 0,475
0,150 ± 0,084	0,153 ± 0,114	0,11 ± 0,06	0,150 ± 0,054
1066,489 ± 585,758	2571,233 ± 1887,932	1398,87 ± 396,01	1787,94 ± 416,59
7,755 ± 1,838	7,468 ± 3,222	4,89 ± 1,21	5,114 ± 1,96
4,423 ± 0,536	3,095 ± 1,297	1,97 ± 0,47	2,012 ± 0,26
189 ± 143	191 ± 129	134 ± 30	127 ± 11

Sprosstrockengewicht:

Im Gesamtmittel aller Ernten zeigt sich für das Sprosstrockengewicht der Pflanzen im 10°C und 30°C Ansatz nur ein sehr geringer Unterschied (10°C: 2,86g± 1,57g; 30°C: 2,82g±1,21g). Die Sprosse des 10°C Ansatzes sind im Mittel nur 0,04g schwerer als die des 30°C Ansatzes.

Das höchste mittlere Sprossgewicht aller Ernten weisen die Pflanzen des 20°C Ansatzes auf (20°C: 3,15g±1,35g).

Blattanzahl:

Erfasst wurden nur Blätter, die sich eindeutig einer Pflanze zuordnen ließen, also solche die noch am Spross saßen oder unmittelbar bei der Ernte abfielen.

Die Blattzahl variierte sehr stark zwischen den Pflanzen innerhalb der einzelnen Ansätze mit Maxima über 600 und Minima um die 50 Blätter.

Auch die Blattgröße variierte an einer einzelnen Pflanze und zwischen verschiedenen Individuen eines Ansatzes um geschätzt bis zu Faktor 10. Die Blattfläche wurde als Parameter nicht erfasst. Es wäre möglicherweise interessant sie zu erfassen, da ein

Zusammenhang mit der Exsudation zu erwarten ist, der Aufwand der dazu betrieben werden müsste wäre bei *Salix variegata* jedoch immens.

Die höchste Blattanzahl im Gesamtmittel erreichten die Pflanzen des 20°C Ansatzes mit 289 ± 116 Blättern. Die 10°C Pflanzen besaßen mit 229 ± 135 Blättern immer noch 71 Blätter mehr als die 30°C Pflanzen mit im Mittel 158 ± 90 Blättern.

Tabelle 3 : Wurzeloberfläche, Wurzeltrockengewicht (WTG), spezifisches Wurzelgewicht

Wurzeloberfl (cm ²)	WTG (g)	Oberfl./WTG (cm ² /g)
20°C	20°C	20°C
1971,93	0,20	9762,04
2577,18	0,24	10828,47
3014,17	0,21	14353,21
3346,17	0,24	13713,82
STABW	STABW	
270,13	0,07	
534,35	0,14	
1278,11	0,09	
1059,45	0,05	
Wurzeloberfl (cm ²)	WTG (g)	Oberfl./WTG (cm ² /g)
30°C	30°C	30°C
1066,49	0,15	7109,93
2571,23	0,15	16860,55
1398,87	0,11	12716,96
1787,94	0,15	11919,62
STABW	STABW	
585,76	0,08	
1887,93	0,11	
396,01	0,06	
416,59	0,05	

Wurzeltrockengewicht

Die Werte für 30°C sind deutlich kleiner (siehe Gesamtmittelwert) als die für 10°C und 20°C (siehe Gesamtmittelwert)

Insgesamt lässt sich eine leichte Zunahme des Wurzeltrockengewichtes bei 20°C, eine stärkere Zunahme bei 10°C jedoch keine Zunahme bei 30°C beobachten.

Das Wurzeltrockengewicht im 10°C Ansatz nimmt von 0,13g in der ersten Ernte auf 0,24g in der 4. Ernte zu. Das bedeutet eine Zunahme um 0,11g.

Das Wurzeltrockengewicht der Pflanzen im 20°C Ansatz nimmt von 0,2 auf 0,24g zu, das entspricht einer Zunahme um 0,04g.

Gesamtmittelwert für das Wurzelgewicht aller 4 Ernten:

10°C: $0,19 \text{ g} \pm 0,09\text{g}$

20°C: $0,22\text{g} \pm 0,09\text{g}$

30°C: $0,14\text{g} \pm 0,07\text{g}$

Ab der 3. Probennahme waren trotz feiner Gaze in den Töpfen Wurzeln aus den Töpfen hinausgewachsen und ragten zu einem geringen Teil in die Lösung des Versuchsansatzes hinein. Diese Wurzeln wurden mit geerntet und erfasst, gingen jedoch nicht in die Berechnungen mit ein, da sie nicht zu den Exsudaten in der Bodenlösung beitrugen. Ihre

Exsudation konnte durch die starke Verdünnung in 250L Wasservolumen nicht erfasst werden.

Zum Zeitpunkt der 3. Probennahme hatten alle 5 geernteten Pflanzen des 20°C Ansatzes externe Wurzeln gebildet. Das Trockengewicht dieser Wurzeln lag im Mittel bei $0,036\text{g} \pm 0,024\text{g}$. Im 10°C Ansatz besaß nur eine der geernteten Pflanzen externe Wurzeln mit einem Trockengewicht von 0,15g. Von den geernteten Pflanzen des 30°C Ansatzes wiesen 2 von 4 externe Wurzeln auf (Mittleres TG 30°C: $0,015\text{g} \pm 0,007$).

Bei der vierten Probennahme besaßen alle 10°C Pflanzen und 4 von 5 der 20°C Pflanzen externe Wurzeln. Im 30°C Ansatz waren es auch bei dieser Ernte nur 2 von 4 Pflanzen (10°C: $0,02\text{g} \pm 0,015\text{g}$; 20°C: $0,06\text{g} \pm 0,061\text{g}$; 30°C: $0,045\text{g} \pm 0,035\text{g}$).

Auch bei diesen Wurzeln lässt sich eine Verzögerung des Wurzelwachstums im 10°C Ansatz gegenüber dem im 20°C Ansatz beobachten. Es fällt auf, dass das Trockengewicht der externen Wurzeln bei 30°C bei der vierten Ernte höher liegt als bei den 10°C Pflanzen.

Spezifisches Wurzelgewicht:

Für das spezifische Wurzelgewicht der Pflanzen in den drei Temperaturansätzen ergibt sich aufgrund der Variabilität der Wurzeloberflächen und Wurzelgewichte eine relativ große Abweichung. Ursachen sind das heterogene Pflanzenmaterial und das zudem individuell sehr verschiedene Wachstum der Pflanzen innerhalb der Temperaturansätze. Dabei streuen die Werte für den 10°C Ansatz deutlich stärker als die Werte für den 30°C und den 20°C Ansatz, die zwischen den Ernten nur gering variieren.

Insgesamt zeigt das spezifische Wurzelgewicht für die drei Temperaturansätze nur minimale Unterschiede, Oberfläche und Gewicht nehmen tendenziell in gleichem Maße zu.

Eine Ausnahme stellen die Wurzeln des 30°C Ansatzes dar, die bei annähernd gleichem Gewicht an Oberfläche zunehmen.

Oberfläche/Wurzelrockengewicht

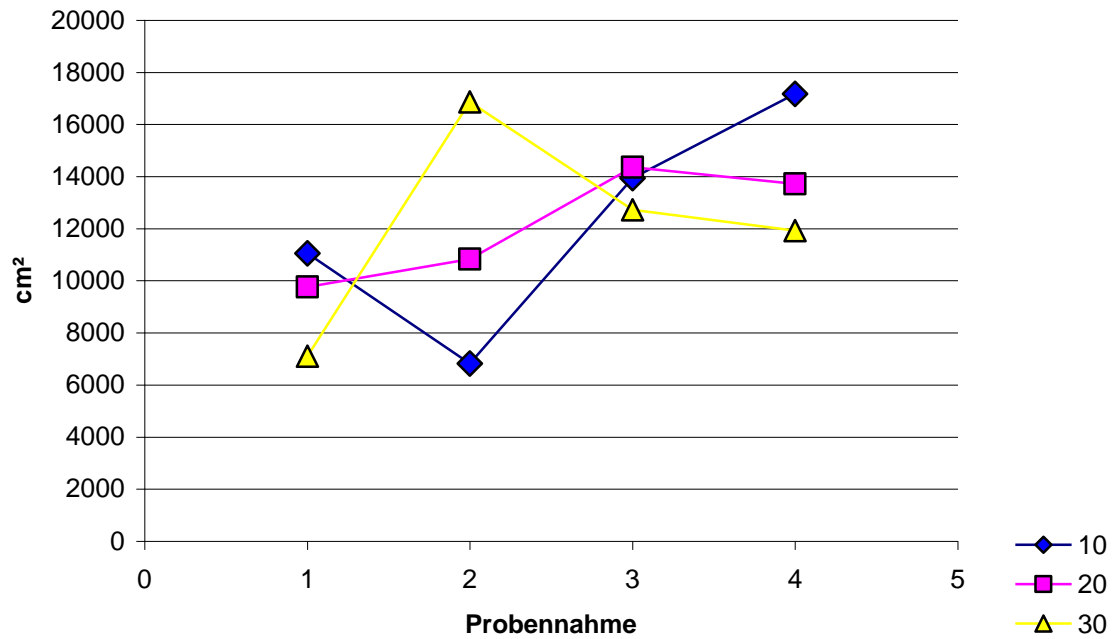


Abbildung 21 zeigt das Verhältnis von Wurzeloberfläche zu Wurzelrockengewicht für die drei Temperaturansätze.

spezifisches Wurzelgewicht

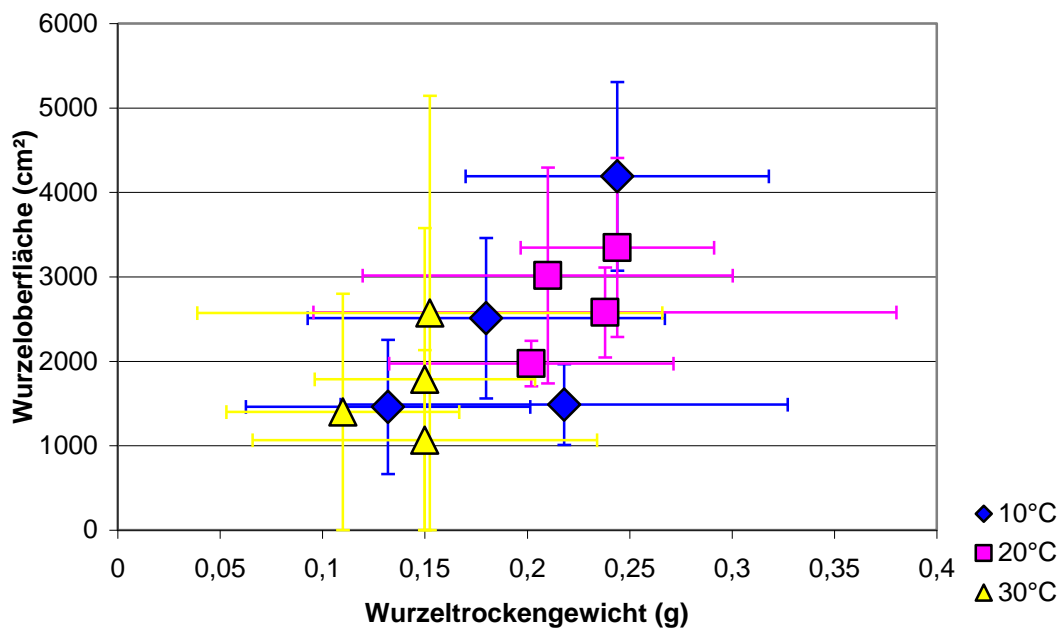


Abbildung 22 In Abbildung zwei ist die Wurzeloberfläche gegen das Wurzelrockengewicht aufgetragen.

Wurzeloberfläche:

Im 10°C und 20°C Ansatz nimmt die Wurzeloberfläche über den Versuchszeitraum hinweg zu. Dabei ist die Oberfläche der 10°C Pflanzen in den ersten drei Ernten deutlich geringer als die der 20°C Pflanzen (siehe Tabelle 3; Abbildung 1 und 2).

In der 4. Ernte ist die Wurzeloberfläche der 10°C Pflanzen deutlich höher als die der 20°C Pflanzen. Die Wurzeloberfläche der 20°C Pflanzen nimmt linear zu, die der 10°C Pflanzen nimmt zeitlich verzögert, aber exponentiell zu.

Die Wurzeloberfläche der 30°C Pflanzen schwankt, wird jedoch nur in der 2. Ernte so hoch wie der Wert für den 20°C Ansatz und bleibt ansonsten etwa halb so hoch wie die Oberfläche der 20°C Wurzeln.

Allerdings ist hierbei zu beachten, dass es sich um unterschiedliche Individuen handelt, da die Pflanzen bei jeder Probennahme vollständig geerntet und fraktioniert wurden. Daher muss man die große Variabilität der einzelnen Pflanzen berücksichtigen und darf diese Veränderungen nicht überbewerten.

Dies gilt aufgrund der begrenzten Probenmenge in diesem Vorversuch für alle unmittelbaren Pflanzenparameter.

Im 30°C Ansatz zeigt sich an der sehr großen Standardabweichung deutlich, dass die Heterogenität der Messwerte hier noch deutlich größer ist als in den beiden anderen Ansätzen.

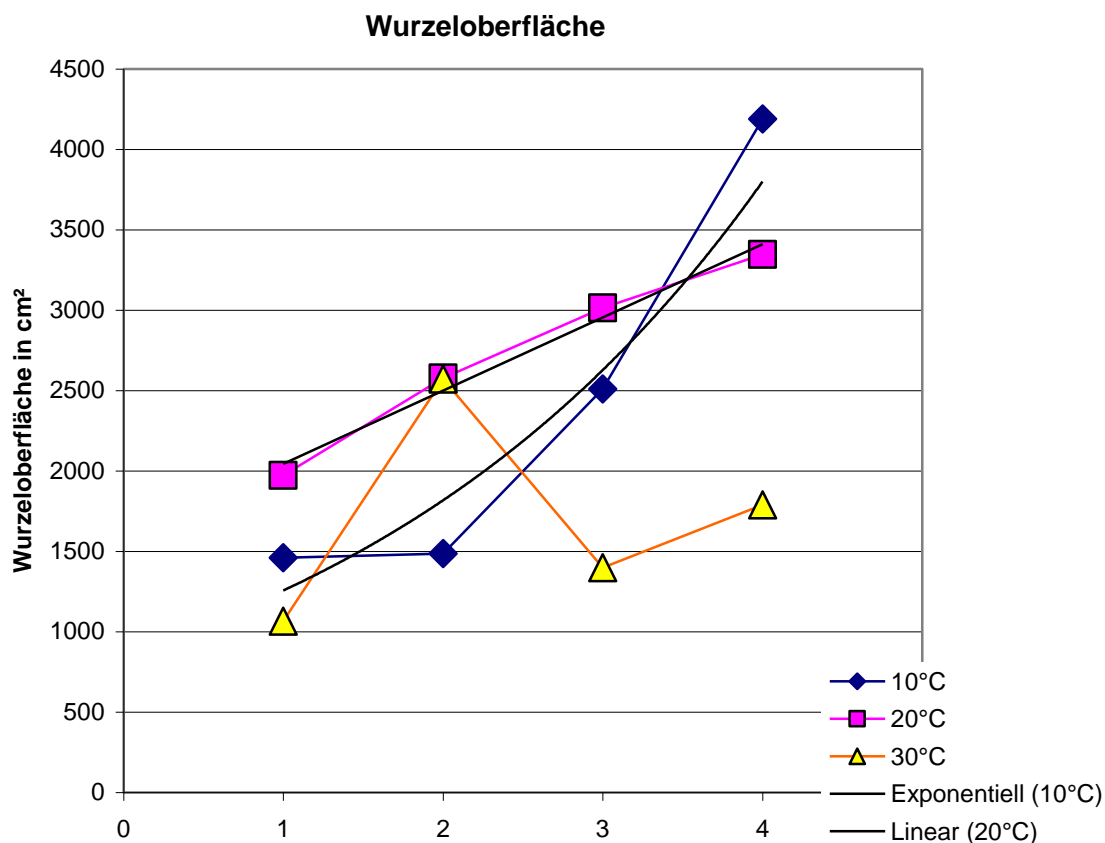


Abbildung 23: Die Abbildung zeigt die Wurzeloberfläche mit Trendlinien für den 10°C Ansatz (exponentiell und den 20°C Ansatz; linear).

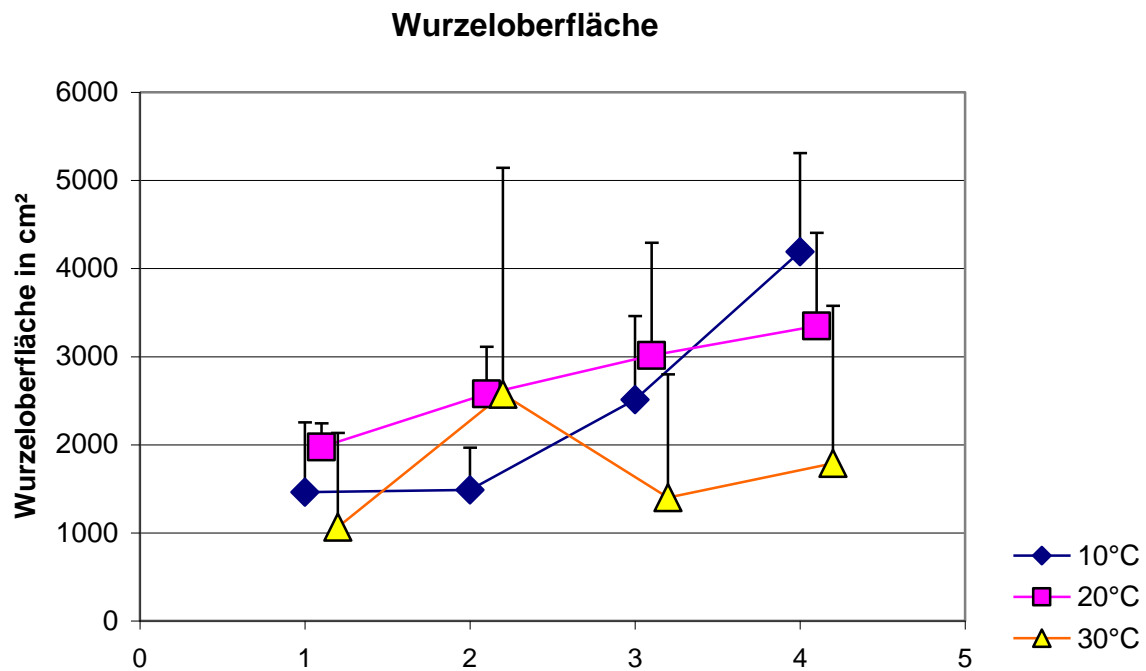


Abbildung 24: Wurzeloberfläche (vgl. Abb.3) mit Standardabweichungen.

Zusammenfassung der Pflanzenparameter:

Die Werte für das spezifische Wurzelgewicht sind in allen Ansätzen recht einheitlich.

Höchste Werte für die Wurzeloberfläche finden sich im 20°C Ansatz.

Das höchste Wurzeltrockengewicht im 20°C Ansatz

Das höchste Sprosstrockengewicht besitzen die 20°C Pflanzen.

Die größte Blattanzahl findet sich bei 20°C.

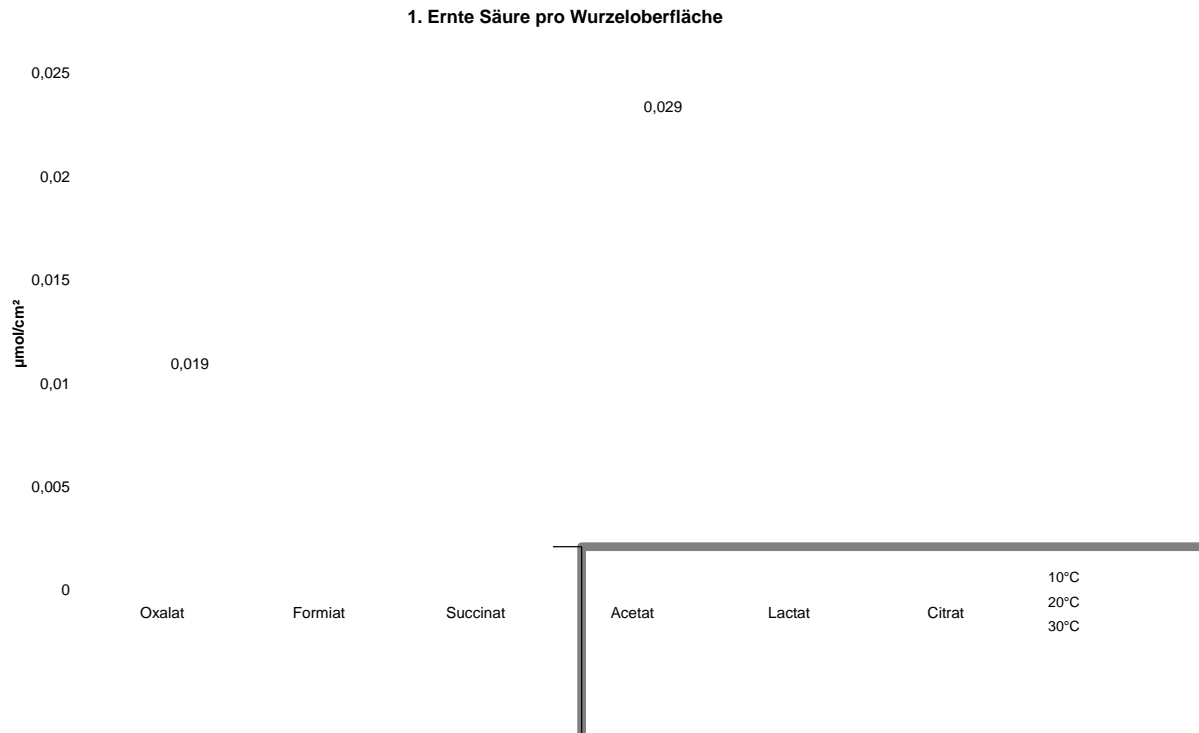


Abbildung 25a

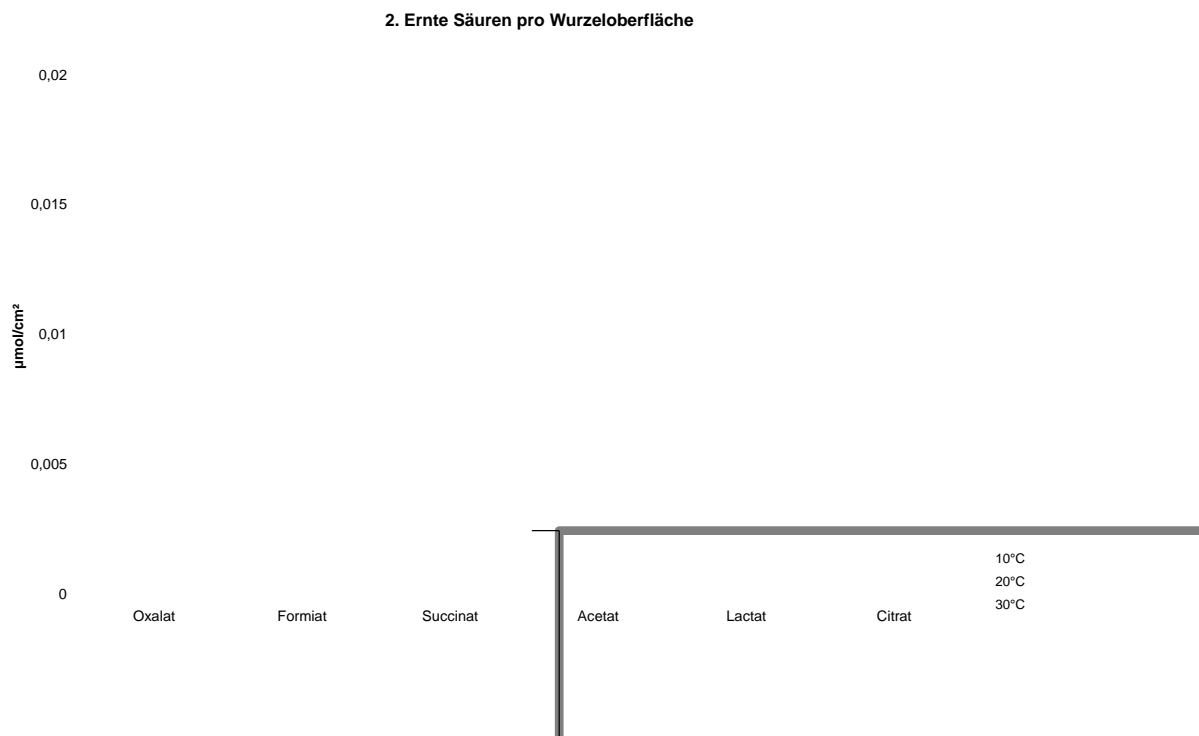


Abbildung 25b

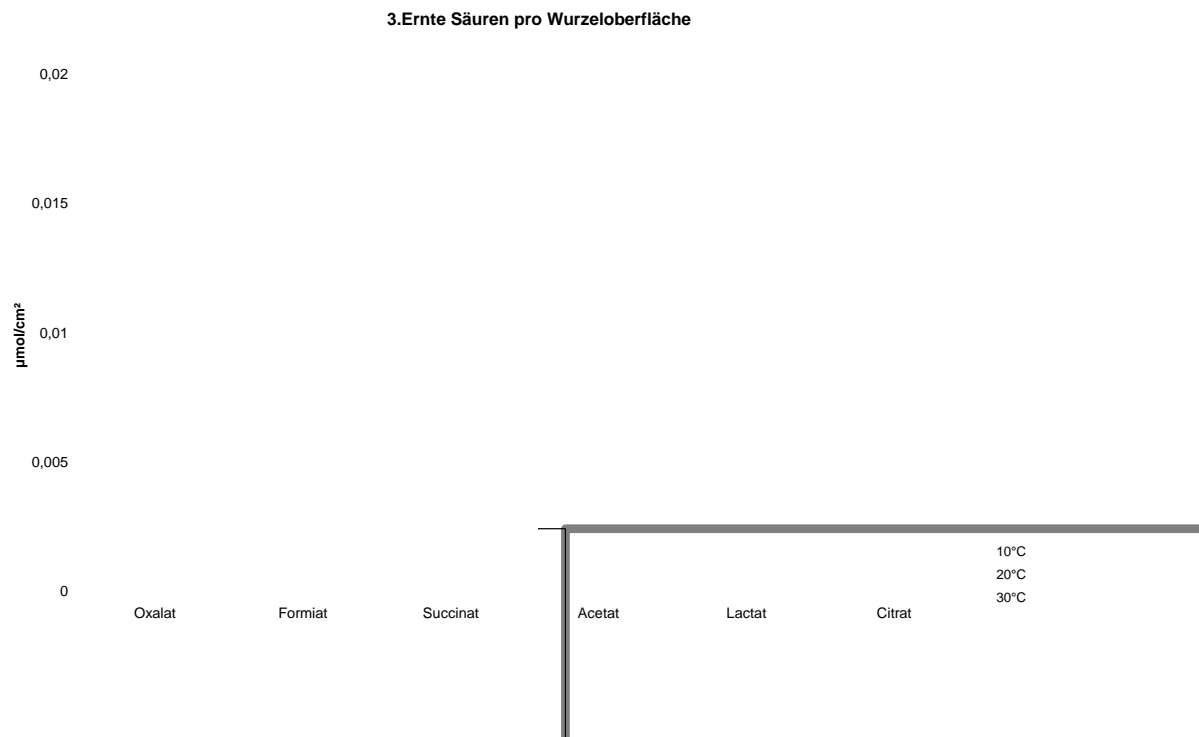


Abbildung 25c

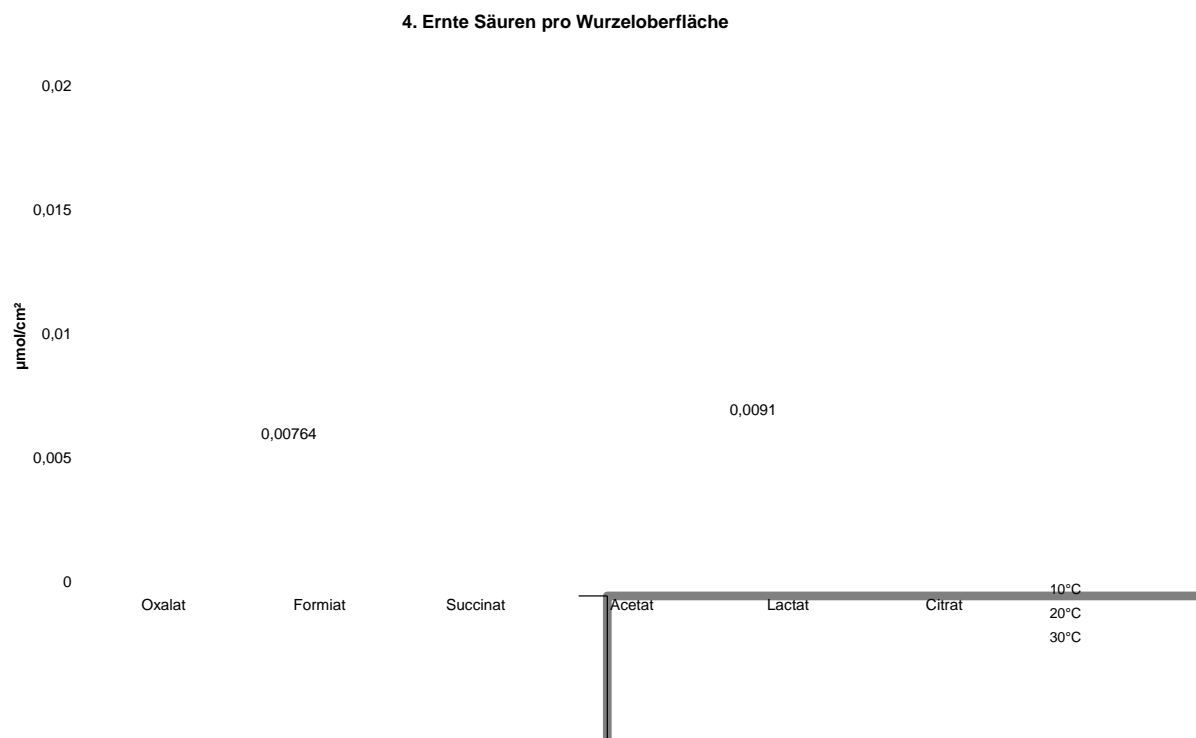


Abbildung 25d

Abbildung 25 a-d zeigt die Säuremenge in μmol bezogen auf die Wurzeloberfläche in cm^2

1. Ernte Zucker/Wurzeloberfläche

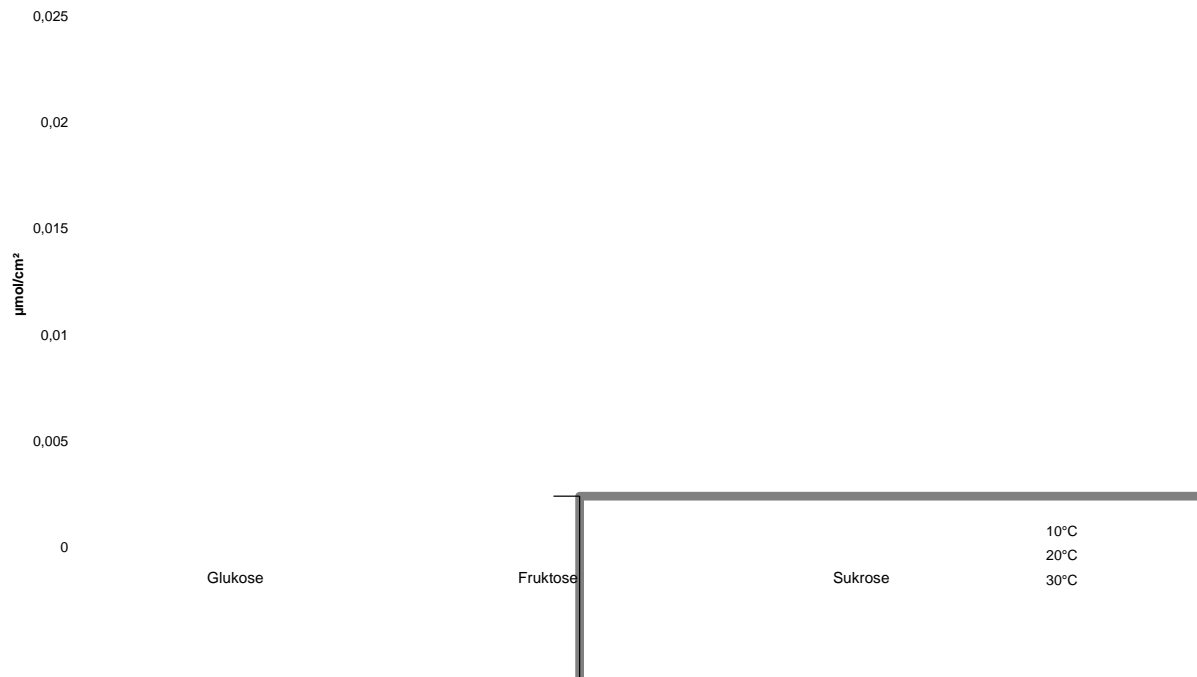


Abbildung 26a

2. Ernte Zucker pro Wurzeloberfläche



Abbildung 26b

3. Ernte Zucker pro Wurzeloberfläche

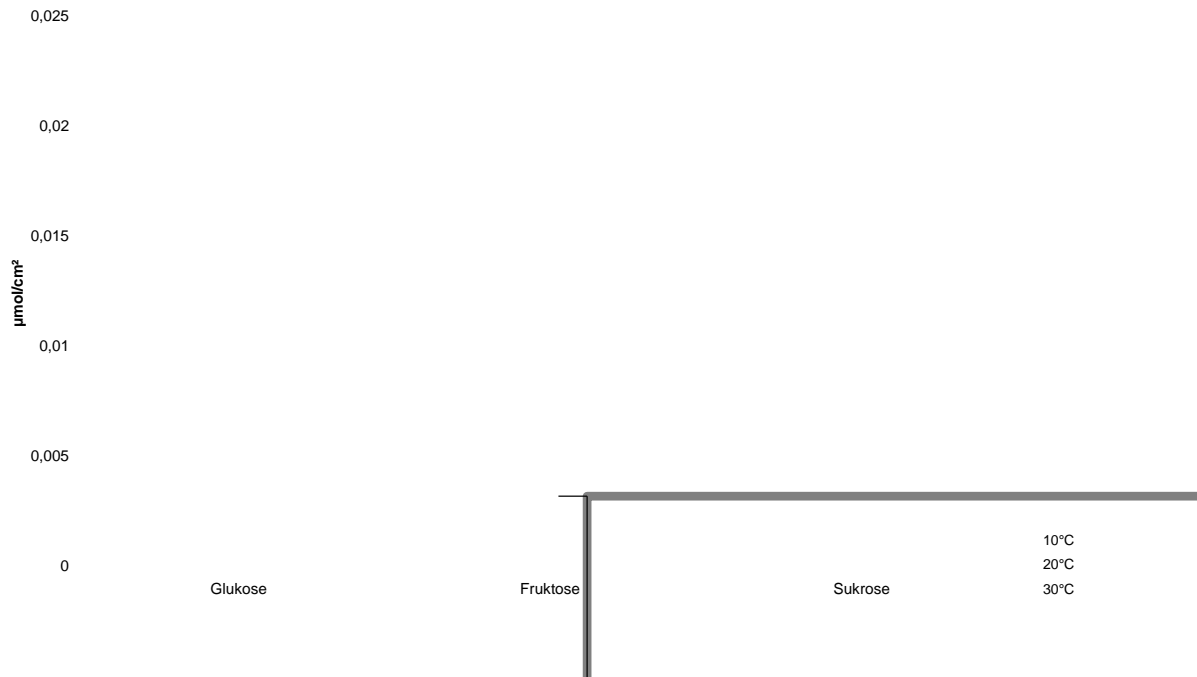


Abbildung 26c

4. Ernte Zucker/Wurzeloberfläche

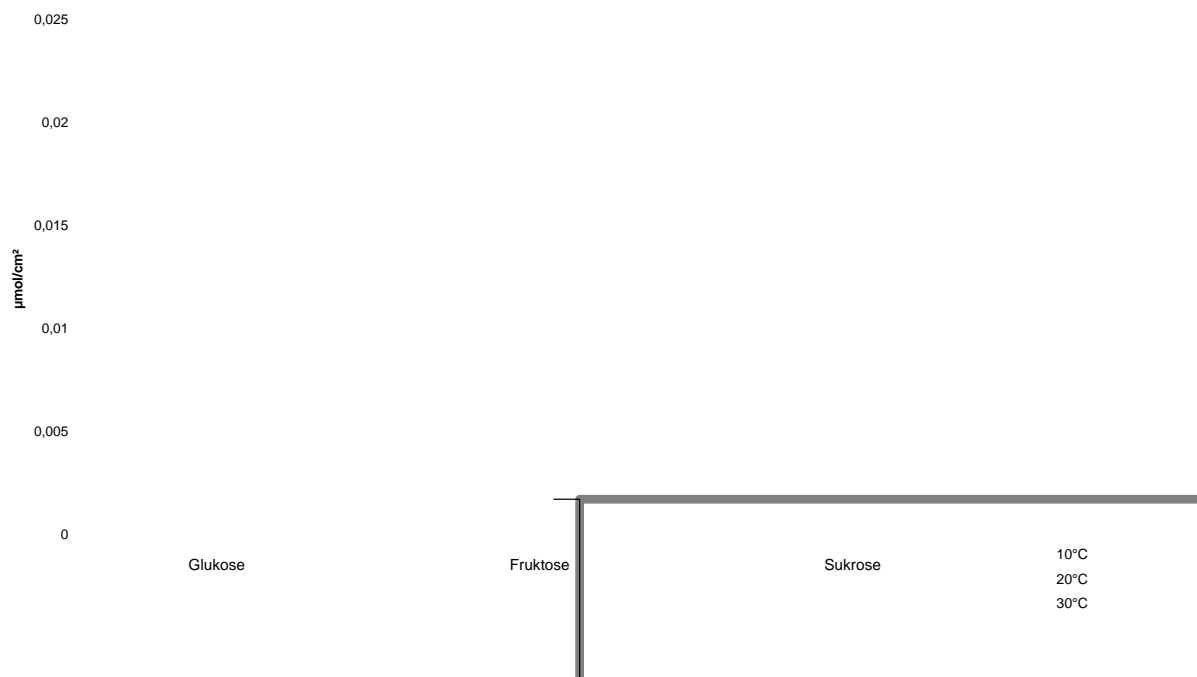


Abbildung 26d

Abbildung 26 a-d zeigt die Zuckermenge in μmol bezogen auf die Wurzeloberfläche in cm^2

A.1. Materialien und Geräte zur Versuchsdurchführung

Kryostat: Glycerol + Wasser (dest.)im Verhältnis (50/50)

Kryostat: Julabo F32+ MC 5 eingestellt auf 7°Celsius

2 Kühlschnecken aus ca. 15m Schlauch, Durchmesser innen 1cm, außen 1,5cm

2 Heizstäbe: HT300 300W 80cm Hersteller: Tetrattec
eingestellt auf ca 30-31°C

3Tonnen, Kunststoff, Fassungsvermögen 300L

Halterungen für die Pflanzgefäße, höhenverstellbar

Maße:45×59×9cm fassen 35 Pflanztöpfe, Spezialanfertigung der ICG(Instituts)-
Werkstatt Abbildung siehe Seite 17

Töpfe: 6,5×6,5×7cm

Glasgranulat/Perlchen : Strahlmittel, Typ 2003 , Menge 75kg ,

Korngröße: 425-850 µm Durchmesser

Firma: MHG Strahlanlagen GmbH Düsseldorf

Wasserfilter JBL Cristal Profi +UV Lampe Aqua Medic UV-steriliser Helix Max UV 9W

Aquariumpumpe: Schego optimal EMV 5Hz 5W +Sprudelsteine Aquafizz, Schläuche
8mm und 5mm im Durchmesser

PH-Meter + digitales Thermometer:

waterproof pH meter CP-401, ELMETRON Zabrze, Polen

Sauerstoffmessgerät: Fibox 3 Software: OxyView

(PreSens Precision Sensing GmbH)

Klimakammer:

Lichtstärke 30cm unter der Lampe 300 µE/m²*s, auf Höhe vom Tonnenrand 80-
100µE/m²*s, auf Wasserhöhe noch 60-80 µE/m²*s, UVA-Strahlung: 0,2-0,3 W/m²,
UVB-Strahlung: 0,004-0,006 W/m²

Lichtmessgerät: Gigahertz-Optik, Gerät: X12 Optometer, Sensor: XD-4501-4

5 Lampengruppen, Leuchtstoffröhren Osram FLUORA 58 Watt/77, 150cm

Ausgeleuchtete Fläche 10m²

16 Stunden Licht von 7Uhr bis 23Uhr, Temperatur konstant bei 21°C, Luftfeuchte
60%,

Belüftung: Luftströmung (airflow) max. 0,4m/s

Photometer zur enzymatischen Bestimmung der Zuckerkonzentration:

ELISA Reader, anthos Mikrosysteme GmbH

Anthos HT1 /HT2 von anthos labtec
Vollautomatisches, mikroprozessorgesteuertes Mikroplatten-
Absorptionsspektrometer
Firma: Anthos Labtec instruments G. m. b. H.,
Lagerhausstrasse 507 Wals/Salzburg

Für die Ernte: Feinwaage Precisa XB 4200C Precisa Instruments Ltd/Switzerland,
max. 4200g, min. 0,5g, e=0,1g,d=0,01g

Zur Bestimmung der Trockengewichte: Präzisionslaborwaage PG 503-S Mettler
Toledo , max. 510g, d= 0,001g

Vakuumfiltrationsgeräte, Volumen 500ml, Nylonfilter 0,2 µm, 75mm, Firma: Nalgene

Vakuumpumpe, Schlauchverbinder 8mm, Schlauch mit 8mm Durchmesser

50ml PE Weithalsflaschen ((2-300Stk) 73 pro Ernte, weitere für Wasserproben und
Nullproben.)

Canon EOS 1000D zur Dokumentation

Trockenschränke, Heraeus, eingestellt bei 75°C, Trocknung der Proben mindestens
24h

Verwendete Software:

Excel 2007; Excel 2003

Word 2002...

Anthos Kinetik 2.0

OxyView-PST3-V5.32 Version 02/2004

(Hersteller: PreSens Precision Sensing GmbH)